

UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Faculdade de Ciências e Tecnologia

Grupo de Disciplinas de Ecologia da Hidrosfera

**ESTUDO DE CO-DIGESTÃO ANAERÓBIA DE LAMAS DOMÉSTICAS
COM O EFLUENTE DA INDÚSTRIA DA FERMENTAÇÃO DA
LEVEDURA DO PÃO DA EMPRESA MAURI FERMENTOS**

Por

Gonçalo dos Santos Silveira

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Tecnologia da
Universidade Nova de Lisboa para a obtenção do grau de Mestre em
Energia e Bioenergia

Orientador: Doutor Santino Di Berardino **(LNEG)**

Co-orientador: Professor Doutor Nuno Lapa **(FCT-UNL)**

Lisboa

Setembro 2009

Copyright

Agradecimentos

Gostaria de expressar o meu agradecimento a todas as pessoas que, de algum modo, contribuíram para a realização deste trabalho:

Ao orientador, Doutor Santino Di Berardino, por me ter dado a oportunidade de realizar o estágio no INETI-DER, pela ajuda na interpretação dos resultados e correcções sugeridas no trabalho.

Ao co-orientador, Professor Doutor Nuno Lapa, pela análise e correcção do trabalho, e pela motivação transmitida.

Ao bolseiro Jorge Cunha, que também esteve envolvido neste trabalho para a realização da sua tese de dissertação de mestrado, gostaria de lhe agradecer a ajuda e o conhecimento transmitido durante e após o estágio.

À Eng. Maria Helena Nogueira, pela ajuda prestada na execução das análises laboratoriais e acompanhamento do digestor.

À Eng. Lurdes Bartolomeu, pela realização das análises de cromatografia.

A todos os funcionários do INETI-DER, pela entreaajuda e bom ambiente de trabalho proporcionado.

Ao Eng. João Silveira, pela disponibilidade para o esclarecimento de dúvidas relativas ao funcionamento da ETAR de Setúbal.

À Inês Pinto, pela ajuda nas correcções e formatação do trabalho.

À minha família, por todo o apoio e incentivo.

Resumo

A implementação de processos de co-digestão anaeróbia apresenta-se como uma opção vantajosa para aumentar o rendimento do tratamento de resíduos orgânicos biodegradáveis, com benefícios em termos ambientais e energéticos. Este trabalho teve como principal objectivo avaliar a possibilidade de implementação, na ETAR de Setúbal, de um processo de co-digestão do efluente da indústria da fermentação da levedura do pão da empresa MAURI Fermentos (M) em simultâneo com as lamas domésticas (LM), fazendo uso dos três digestores anaeróbios disponíveis na ETAR, dos quais dois se encontram actualmente sem utilização.

Com este objectivo, foi inoculado um digestor anaeróbio, funcionando em fluxo intermitente e em mistura completa, com 3750 ml de lamas, e a funcionar em regime mesófilo (35°C). O regime de alimentação aplicado durante o período de arranque foi constituído unicamente por LM, sendo posteriormente adicionado progressivamente efluente industrial, em função do nível de adaptação do sistema biológico às concentrações crescentes desse substrato.

Os resultados obtidos permitiram concluir que a co-digestão destes dois substratos apenas foi possível até uma proporção de 50% LM + 50% M (v/v). Para uma proporção de M superior a 50% (v/v), verificou-se inibição significativa no processo de digestão anaeróbia, derivada dos efeitos tóxicos provocados nas bactérias metanogénicas, devido à concentração excessiva de sulfato presente neste efluente. As condições óptimas de funcionamento do processo verificaram-se com a aplicação de uma carga orgânica de 2,16 g CQO/(L_{reactor}·dia) na alimentação, possibilitando um aumento na taxa diária de produção de biogás de cerca de 3,5 vezes superior à taxa de produção registada no período de arranque do digestor alimentado apenas com LM, e uma eficiência de remoção de CQO compreendida entre 40 e 55%.

As principais contrariedades verificadas no processo, para além da concentração de sulfato, foram a acumulação excessiva de acetato e a elevada taxa de precipitação de fósforo.

Estima-se que a implementação da co-digestão à escala real na ETAR de Setúbal, com a manutenção das condições mais favoráveis verificadas em laboratório, possa gerar 210 GWh/mês de energia eléctrica e 341 GWh/mês de energia térmica, possibilitando uma poupança de 18.608 €/mês em termos de energia eléctrica.

Abstract

The implementation of anaerobic co-digestion processes is one advantageous option to maximize the yield of the treatment of organic wastes, with energetic and environmental benefits. The main goal of this study was to evaluate the possibility of implementation of a co-digestion process, in Setúbal Wastewater Treatment Plant (WTP), by using the yeast wastewater from MAURI Fermentos factory simultaneously with the domestic sludge. The co-digestion process must use the three digesters available at this facility, two of which are remaining without any use nowadays.

With this aim, a semi-continuous stirred tank reactor was inoculated with 3750 ml of domestic sludge, under the mesophilic temperature regime (35°C). During the first 10 days of operation, the digester was fed exclusively with domestic sludge, and only after this period the influent was progressively mixed with increasing concentrations of the yeast wastewater, regarding the adaptation of the biological system to this substrate.

The results obtained in this study allow concluding that the anaerobic treatment of this substrates was only possible to a proportion of 50% domestic sludge + 50% yeast wastewater (v/v). For a proportion of a yeast wastewater higher than 50% (v/v), it was possible to verify significant inhibition in the anaerobic digestion process, associated with the toxic effects induced in the methanogens because of the high concentration of sulphates present in yeast wastewater. The optimum conditions in terms of efficiency of the process were verified with the application of a organic loading rate of 2,16 g COD/(L_{reactor}.day), which resulted in a daily production rate of biogas 3,5 times higher compared to the daily rate verified at the beginning of this study (first 10 days), and with a COD removal efficiency of 40 to 55%.

The main drawbacks verified during the process, beside the concentration of sulphates, were the excessive accumulation of acetate, and the high rate of precipitation of phosphorous.

The estimate for the implementation of a co-digestion process at real scale at Setúbal WTP points out that, 210 GWh/month of electric energy and 341 GWh/month of thermal energy can be produced, reducing the electric energy bill by 18.608 €/month, provided that the stable conditions verified at laboratory scale are maintained.

Índice de matérias

1	Enquadramento geral.....	1
2	Introdução	4
2.1	Processo de degradação anaeróbio	4
2.1.1	Hidrólise.....	6
2.1.2	Acidogénese	7
2.1.3	Acetogénese	9
2.1.4	Metanogénese.....	12
2.1.5	Sulfidogénese	14
2.1.5.1	Competição entre BRS e BF.....	16
2.1.5.2	Competição entre BRS e BAPH.....	17
2.1.5.3	Competição entre BRS e BHA.....	18
2.1.5.4	Competição entre BRS e BM	18
2.2	Factores ambientais que interferem com o processo	20
2.2.1	Temperatura.....	20
2.2.2	TRH	21
2.2.3	pH e alcalinidade	22
2.2.4	Agitação.....	23
2.2.5	Nutrientes (Razão Carbono/Azoto)	24
2.2.6	Toxicidade e inibição	24
2.2.6.1	Amónia	24
2.2.6.2	Sulfuretos	26
2.2.6.3	AGV.....	30
2.2.6.4	Metais pesados	31
2.2.6.5	Metais alcalinos e alcalino-terrosos.....	33
2.3	Tipos de reactores anaeróbios.....	34
2.3.1	Reactor de mistura completa	35
2.3.2	Reactor de contacto	36
2.3.3	Reactor anaeróbio descontínuo sequencial.....	37
2.3.4	Reactor de filtro anaeróbio	37
2.3.5	Reactor de leito fluidizado/leito expandido.....	38
2.3.6	Reactor de manto de lamelas de fluxo ascendente (UASB).....	38

2.3.7	Reactor anaeróbio com anteparas	39
2.3.8	Digestão anaeróbia em duas fases	40
3	Co-digestão de Substratos Orgânicos	41
3.1	Caracterização de lamas domésticas	41
3.2	Caracterização de efluentes da indústria da levedura do pão.....	44
3.3	Casos de estudo do tratamento de efluentes da indústria da levedura.....	45
4	Objectivos.....	48
5	Descrição do trabalho experimental	49
6	Material e Métodos.....	55
6.1	Carência química de oxigénio (CQO).....	55
6.2	Teor em sólidos	56
6.2.1	Determinação de sólidos totais (ST) e de sólidos voláteis (SV)	56
6.2.2	Teor em sólidos suspensos totais (SST) e de sólidos suspensos voláteis (SSV).56	
6.3	Determinação de diferentes fracções de azoto	57
6.3.1	Azoto Kjeldhal total (TKN)	57
6.3.2	Azoto amoniacal (NH_4^+)	58
6.4	Determinação do fósforo total.....	59
6.5	Determinação de sulfatos	60
6.6	Determinação de AGV.....	61
6.7	Determinação da composição do biogás	62
7	Resultados e discussão	63
8	Balanco energético aos digestores anaeróbios da ETAR de Setúbal funcionando num cenário hipotético de co-digestão	81
9	Conclusões	88
10	Proposta de trabalho futuro	90
11	Referências bibliográficas	91
Anexo	106

Índice de Quadros

Quadro 2.1- Reacções associadas à degradação de AGV.....	10
Quadro 2.2- Reacções da fase de metanogénese	13
Quadro 2.3- Concentrações de sulfuretos na forma não ionizada (H_2S) e sulfuretos totais (ST) responsáveis pela inibição das BM.....	28
Quadro 2.4- Concentrações de sulfuretos na forma não ionizada (H_2S) e sulfuretos totais (ST) responsáveis pela inibição das BRS	29
Quadro 2.5- Concentrações inibitórias de Cd, Cr, Cu, Ni, Zn, e Pb.....	32
Quadro 2.6- Concentração inibitória para alguns metais alcalinos e alcalino-terrosos	33
Quadro 2.7- Condições operacionais típicas das várias configurações de digestores anaeróbios.....	34
Quadro 3.1- Componentes principais do esgoto municipal.....	42
Quadro 3.2- Composição média da água residual doméstica.....	42
Quadro 3.3- Caracterização das lamas produzidas em ETARs.	43
Quadro 3.4- Resultados do funcionamento dos digestores anaeróbios de Zub <i>et al.</i> , (2008).	46
Quadro 3.5- Resultados do estudo de Lo e Liao (1990).	47
Quadro 5.1- Regime de alimentação aplicado no digestor.....	50
Quadro 5.2- Composição média das lamas em digestão do fundo do digestor anaeróbio da ETAR de Setúbal, das LM e do efluente da MAURI.	51
Quadro 5.3- Parâmetros de monitorização e periodicidade das análises efectuadas.....	54
Quadro 6.1- Caracterização das análises aos AGV.	61
Quadro 6.2- Caracterização das análises à composição do biogás.	62

Quadro 8.1- Parâmetros do estudo laboratorial utilizados no balanço energético aos digestores da ETAR de Setúbal.	81
Quadro 8.2- Potência e eficiência do sistema de co-geração da ETAR de Setúbal.	82
Quadro 8.3- Estimativa da produção de energia eléctrica e térmica com a implementação da co-digestão na ETAR de Setúbal.	82
Quadro 8.4- Estimativa da energia eléctrica consumida no funcionamento do processo de co-digestão anaeróbia.	83
Quadro 8.5- Dimensões dos digestores anaeróbios da ETAR de Setúbal.	84
Quadro 8.6- Espessuras dos materiais de isolamento térmico dos digestores e respectivos coeficientes de condutividade térmica.	84
Quadro 8.7- Coeficientes de transmissão térmica nos digestores.....	85
Quadro 8.8- Parâmetros utilizados para o cálculo das perdas térmicas nos digestores.	85
Quadro 8.9- Áreas de superfície de troca térmica nos digestores.....	86
Quadro 8.10- Perdas térmicas por condução à superfície dos digestores.	86

Índice de Figuras

Figura 2.1- Fluxo de carbono no processo de digestão anaeróbia (% CQO).	5
Figura 2.2- Produtos do metabolismo fermentativo mediante a pressão parcial de H_2	8
Figura 2.3- Efeito da pressão parcial na alteração da energia livre.	11
Figura 2.4- Influência da temperatura na energia livre de <i>Gibbs</i> associada ao metabolismo anaeróbio do acetato e H_2	14
Figura 2.5- Prevalência das diferentes formas de sulfuretos para diferentes valores de pH. .	27
Figura 2.6- Configurações de reactores anaeróbios usadas no tratamento de águas residuais.	35
Figura 5.1- Esquema do sistema experimental instalado.	51
Figura 5.2- Fotografia do sistema experimental instalado.	52
Figura 7.1- Variação do potencial redox no afluente e no efluente do digestor anaeróbio, ao longo de todo o ensaio.	63
Figura 7.2- Variação do pH.	64
Figura 7.3- Variação da temperatura no digestor anaeróbio, ao longo de todo o ensaio.	65
Figura 7.4- TRH e carga orgânica aplicados no digestor anaeróbio, ao longo de todo o ensaio.	66
Figura 7.5- Concentração total de AGV no afluente e no efluente do digestor, em função da carga orgânica aplicada.	67
Figura 7.6- Variação da composição do biogás em CH_4 , CO_2 , N_2+O_2 e H_2S	68
Figura 7.7- Concentração de acetato no afluente e no efluente do digestor, em função da carga orgânica aplicada.	69
Figura 7.8- Concentração de propionato em função da carga orgânica aplicada.	69

Figura 7.9- Concentração de butirato, valerato e respectivas formas isoméricas no afluente e no efluente do digestor anaeróbio, ao longo de todo o ensaio.....	70
Figura 7.10- Variação do CQO no afluente e no efluente do digestor e respectiva eficiência de remoção ao longo de todo o ensaio.....	71
Figura 7.11- Concentração de sólidos totais no afluente e no efluente no digestor e respectiva eficiência de remoção ao longo de todo o ensaio.....	72
Figura 7.12- Concentração de sólidos voláteis no afluente e no efluente do digestor e respectiva eficiência de remoção ao longo de todo o ensaio.	72
Figura 7.13- Concentração de sólidos suspensos totais no afluente e no efluente no digestor e respectiva eficiência de remoção ao longo de todo o ensaio.	73
Figura 7.14- Concentração de sólidos suspensos voláteis no afluente e no efluente do digestor e respectiva eficiência de remoção ao longo de todo o ensaio.	73
Figura 7.15- Variação da concentração de sulfato no afluente e no efluente do digestor e respectiva eficiência de remoção ao longo de todo o ensaio.	74
Figura 7.16- Razão CQO/SO ₄ ²⁻	75
Figura 7.17- Variação da concentração de azoto amoniacal no afluente e no efluente do digestor anaeróbio ao longo de todo o ensaio.....	76
Figura 7.18- Variação da concentração de azoto <i>Kjeldhal</i> no afluente e no efluente do digestor e respectiva eficiência de remoção ao longo de todo o ensaio.	77
Figura 7.19- Variação da concentração de fósforo no afluente e no efluente do digestor.	78
Figura 7.20- Variação da taxa diária de produção de biogás em função da carga orgânica aplicada ao digestor.....	79
Figura 7.21- Produção total de biogás ao longo do ensaio.	79
Figura 8.1- Estimativa da produção e consumos de energia térmica e eléctrica nos digestores da ETAR de Setúbal com a implementação da co-digestão.	87

Lista de abreviaturas e simbologia

AGV	Ácidos gordos voláteis
AGCL	Ácidos gordos de cadeia longa
BA	Bactérias acetogénicas
BAPH	Bactérias acetogénicas produtoras de hidrogénio
BF	Bactérias fermentativas
BM	Bactérias metanogénicas
BMA	Bactérias metanogénicas acetoclásticas
BMH	Bactérias metanogénicas hidrogenotróficas
BH	Bactérias hidrolíticas
BHA	Bactérias homoacetoclásticas
BRS	Bactérias redutoras de sulfatos
BRSH	Bactérias redutoras de sulfatos hidrogenotróficas
BRSA	Bactérias redutoras de sulfatos acetotróficas
CBO	Carência bioquímica de oxigénio
CQO	Carência química de oxigénio
CSTR	<i>Continuous stirred tank reactor</i> (Reactor biológico de mistura completa)
DA	Digestão anaeróbia
ETAR	Estação de Tratamento de Águas Residuais
INETI-DER	Instituto Nacional de Engenharia Tecnologia e Inovação - Departamento de Energias Renováveis
LM	Lamas mistas
M	Efluente da empresa MAURI Fermentos
Q	Caudal
SS	Sólidos suspensos
SST	Sólidos suspensos totais

SSV	Sólidos suspensos voláteis
ST	Sólidos totais
SV	Sólidos voláteis
TKN	<i>Total Kjeldhal nitrogen</i> (Azoto Kjeldhal total)
TRH	Tempo de retenção hidráulico
TRS	Tempo de retenção de sólidos
UASB	<i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i> (Reactor de manto de lamas de fluxo ascendente)
V	Volume

1- Enquadramento geral

A crescente consciencialização das sociedades modernas sobre a importância de se proceder ao tratamento das águas residuais de modo a prevenir a poluição ambiental, assegurar a sustentabilidade do ambiente, e evitar as consequências que estes resíduos poderão ter na saúde pública derivado da presença de microrganismos patogénicos e parasitas, tem resultado no aumento significativo do número de Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETARs), e no desenvolvimento de esforços com o objectivo de aumentar a eficiência dos processos de tratamento de resíduos.

O principal objectivo do tratamento dos esgotos domésticos está na correcção das suas características de modo a que o efluente tratado possa sofrer uma deposição final de acordo com as normas estabelecidas, de modo a evitar impactes adversos no ecossistema do meio receptor (Van Haandel e Lettinga, 1994). As lamas produzidas durante o processo de tratamento podem ter como destino final a incineração ou aplicação em solo agrícola. A reutilização da lama estabilizada como fertilizante agrícola é a opção mais atractiva a nível ambiental uma vez que possibilita a reciclagem de nutrientes e matéria orgânica (Boušková *et al.*, 2005), uma vez que as lamas possuem teores elevados em matéria orgânica, azoto, fósforo, cálcio e outros elementos minerais. Como os solos em Portugal são, de um modo geral, pobres em matéria orgânica, a deposição de lamas permite ultrapassar este problema de forma económica contribuindo, simultaneamente, para a solução de um problema ambiental. No entanto, os benefícios para os solos e culturas só se verificam se a aplicação das lamas for feita correctamente, respeitando as épocas, técnicas de aplicação e quantidades a depositar, as condicionantes do solo, clima e das culturas agrícolas.

Em Portugal, a promulgação de nova legislação e a transposição de normas da União Europeia, tem reforçado, nos últimos anos, a exigência em termos de parâmetros de descarga. No entanto, o elevado número de ETARs que entraram em funcionamento nos últimos anos, geram um volume de lamas significativo que tem de ser tratado e colocado em destino final apropriado (Di Berardino, 2006a). O destino final das lamas e de lixo orgânico tem sido predominantemente, a sua deposição em aterro. No entanto, esta opção não é sustentável a longo prazo tendo vindo a ser impostas fortes barreiras económicas, através da legislação, de modo a estimular a implementação de soluções mais benéficas em termos ambientais.

Por outro lado, as energias renováveis têm estado, nos últimos anos, em franca expansão devido à urgência de implementação de soluções alternativas que minimizem a dependência dos países relativamente aos combustíveis fósseis, e à urgência em combater o fenómeno do “aquecimento global”, reduzindo as emissões de gases com efeito de estufa. Actualmente existe uma preocupação associada à adequabilidade das fontes de combustível, do custo da energia e dos níveis de tratamento crescentes que são exigidos, dos quais resultam consumos energéticos superiores. Consequentemente, o dimensionamento e a operação das ETARs modernas estão cada vez mais focalizados na maximização da eficiência do uso da energia eléctrica e na redução dos custos de tratamento (Metcalf e Eddy, 2003). O biogás produzido durante o processo de digestão anaeróbia (DA) é uma fonte de energia renovável com um potencial significativo, adequado para a produção de electricidade e calor, podendo também ser utilizado como combustível em veículos de transporte (Tafdrup, 1995). Deste modo, a biomassa apresenta-se como uma fonte de energia renovável bastante viável devido à sua enorme disponibilidade no ambiente terrestre, apresentando um papel crucial na redução da concentração do CO₂ atmosférico (Claassen *et al.*, 1999). A energia libertada durante a combustão do gás metano pode substituir a das principais fontes de energia actuais associadas à utilização de combustíveis fósseis, caracterizadas por um ciclo de carbono com uma escala temporal de milhares de anos. Sendo o metano derivado de biomassa, com um ciclo de carbono com uma escala temporal bastante mais reduzida comparativamente ao dos combustíveis fósseis, permite que o carbono emitido seja rapidamente fixado novamente com a produção de nova biomassa, acabando por não ficar concentrado na atmosfera sob a forma de CO₂, designando-se, por esta razão, por ciclo neutro de carbono.

A DA é descrita muitas vezes como um processo instável (Anderson *et al.*, 1982; Speece, 1983). No entanto, os avanços verificados nos últimos 20 anos na compreensão da bioquímica e energética do processo contribuíram para o desenvolvimento do conhecimento das fases mais sensíveis do processo, assim como de estratégias que permitiram aumentar a estabilidade dos reactores anaeróbios, proporcionando uma maior retenção de biomassa por adesão a suportes, granulação ou reciclagem da biomassa em reactores de alta carga. Para além disso, os avanços verificados nesta área permitiram que outros tipos de resíduos, de constituição mais complexa, pudessem também ser tratados por via anaeróbia (Lettinga, 1995).

Os processos de tratamento por via anaeróbia apresentam vantagens significativas relativamente aos processos convencionais aeróbios, das quais se destacam: menor produção de biomassa (cerca de 5 vezes menor comparativamente ao processo aeróbio), a menor necessidade em nutrientes, a remoção mais eficaz de microrganismos patogénicos, a redução de odores, a capacidade da biomassa preservar a sua actividade após longos períodos sem alimentação, para além do biogás produzido providenciar uma fonte de energia endógena e renovável (Ward *et al.*, 2008). Nos processos aeróbios além de não se obter nenhum produto com valor económico, há um consumo energético associado ao fornecimento de oxigénio necessário ao processo. Por cada 100 kg de matéria orgânica degradada, expressa em CQO, consomem-se 100 kWh por via aeróbia, enquanto por via anaeróbia são produzidos 285 kWh (Neves, 2002).

As principais desvantagens são a velocidade lenta do processo comparativamente ao processo aeróbio, a elevada sensibilidade a substâncias tóxicas, o arranque lento do processo e a necessidade de se proceder a um tratamento final subsequente de modo a satisfazer os requisitos para descarga no meio receptor (Bitton, 1994; Metcalf e Eddy, 2003).

Pelas razões expostas, o processo de DA apresenta, de um modo geral, claras vantagens para o tratamento de resíduos orgânicos. No entanto, os benefícios que resultam da sua aplicação estão dependentes da boa operacionalidade e controlo rigoroso do processo.

2- Introdução

2.1- Processo de degradação anaeróbio

A DA é um processo mediado por uma comunidade complexa de microrganismos que promovem a decomposição e degradação da matéria orgânica nos respectivos compostos químicos mais simples, na ausência de oxigénio (potencial de oxidação redução < -200 mV), permitindo, deste modo, a estabilização bioquímica de resíduos orgânicos. O bom funcionamento do processo está dependente da acção cooperativa e sequencial de diversas bactérias de diferentes grupos tróficos (McHugh *et al.*, 2003). As bactérias anaeróbias de diferentes grupos tróficos apresentam muitas vezes relações de sintrofia (benefício mútuo), cooperando entre si de modo a aproveitar de modo eficiente quantidades muito reduzidas de energia que normalmente se verificam no processo de conversão da matéria orgânica em metano (Schink, 1997). Este processo tanto pode ocorrer naturalmente no ambiente como em digestores em ambiente controlado. Os produtos finais da DA são o biogás, constituído essencialmente por metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2), e o produto digerido, constituído por biomassa microbiana (Kelleher *et al.*, 2000). O biogás produzido possui um poder calorífico de aproximadamente $21\text{-}25 \text{ MJ/m}^3$, cerca de 30-40% inferior ao do gás natural (Appels *et al.*, 2008).

As vias metabólicas de degradação dos compostos durante o processo de DA são complexas e não completamente conhecidas, processando-se segundo uma sequência diversa de reacções.

No processo de DA podem ser utilizados diferentes tipos de substratos, nomeadamente: lamas domésticas, resíduos resultantes da actividade agro-pecuária (estrume de vacas, porcos e aves), fracção orgânica dos resíduos sólidos municipais e efluentes resultantes da actividade industrial (indústria de bebidas, produtos alimentares, amido, açúcar, processamento de papel, matadouros, químicos, leite, cosméticos, entre outros).

Resumidamente, o processo anaeróbio pode ser dividido por quatro fases interdependentes (Batstone *et al.*, 2006):

- Hidrólise extracelular da matéria complexa particulada nos respectivos monómeros (açúcares e aminoácidos);

- Acidogénese dos açúcares e aminoácidos em ácidos gordos voláteis (AGV) e álcoois;
- Acetogénese sintrófica, onde os álcoois e AGV são convertidos a acetato, hidrogénio ou formato. Esta fase ocorre obrigatoriamente em sintrofia com as bactérias metanogénicas (BM) que utilizam o hidrogénio ou formato produzido para produção de metano;
- Metanogénese, onde o acetato, H_2 e formato são convertidos em metano.

Na Figura 2.1 é apresentado um esquema com as várias fases do processo e os produtos formados.

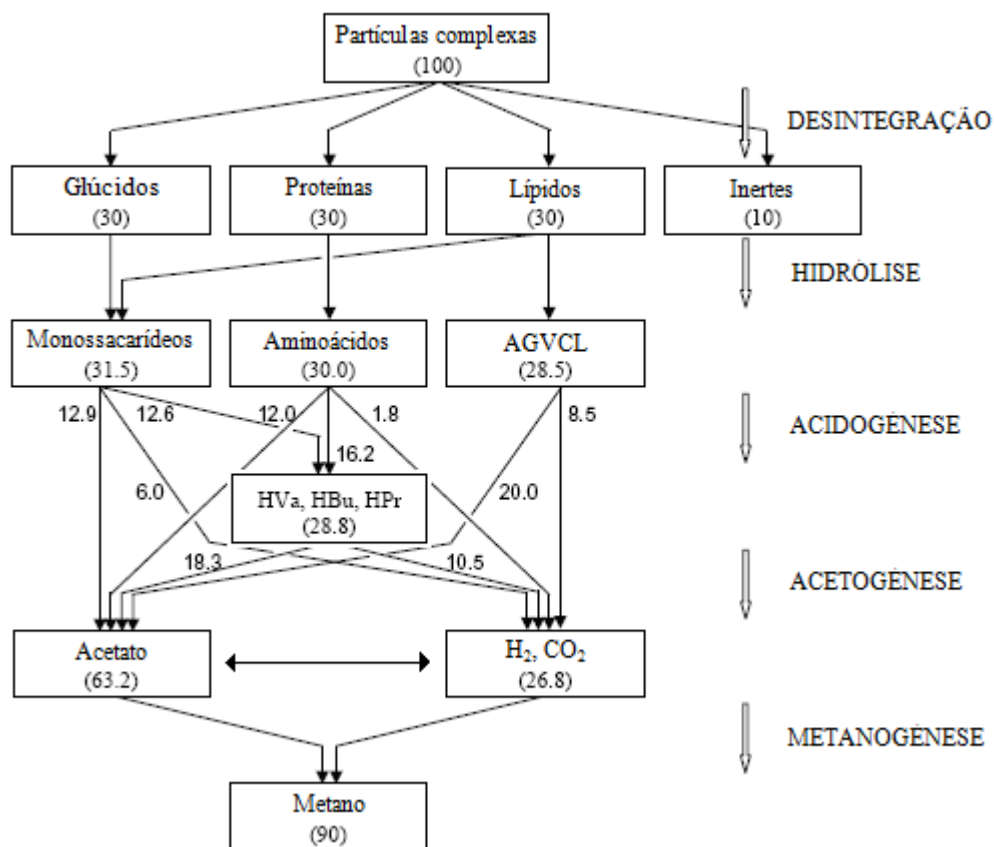


Figura 2.1- Fluxo de carbono no processo de digestão anaeróbia (% CQO); HVa: valerato; HBu: butirato; HPr: propionato (Fonte: Batstone, 2002).

2.1.1- Hidrólise

O primeiro passo da DA é a hidrólise, onde enzimas hidrolíticas extra-celulares degradam compostos de elevado peso molecular (glúcidos, proteínas e lípidos), em compostos monoméricos e oligoméricos solúveis.

As bactérias hidrolíticas (BH) excretam enzimas que hidrolisam o substrato particulado em moléculas mais reduzidas, permitindo que estas atravessem as membranas celulares, podendo ser utilizadas pelas bactérias fermentativas (BF) durante o processo subsequente de acidogénese. Dentro da célula, estas moléculas são utilizadas de modo a providenciar-lhe energia e a sintetizar componentes celulares (Parawira *et al.*, 2005).

Os glúcidos são hidrolisados a monossacáridos, as proteínas a aminoácidos e os lípidos a ácidos gordos voláteis de cadeia longa (AGVCL) e glicerol (Miron *et al.*, 2000). O bom funcionamento do processo de hidrólise está dependente do contacto eficiente entre a biomassa e o substrato (Angelidaki e Sanders, 2004). Durante a degradação das proteínas é libertado azoto sob a forma de amónia (Vavilin *et al.*, 2008).

O processo de hidrólise envolve várias fases, tais como: produção de enzimas, difusão, adsorção, reacção e a desactivação da enzima (Vavilin *et al.*, 2008).

A eficiência da actividade enzimática está dependente, de um modo geral, de vários factores como composição e concentração do substrato, produção e estabilidade das enzimas, disponibilidade de substrato, pH, temperatura do líquido em digestão (Sarada e Joseph, 1993; Batstone *et al.*, 2000) e concentração de AGV (Siegert e Banks, 2005).

A velocidade do processo de hidrólise de gorduras depende fundamentalmente do comprimento das cadeias dos ácidos gordos voláteis (AGV), do estado do substrato (sólido ou líquido) e da área superficial específica (Martinelle e Hult, 1994). A velocidade do processo de hidrólise de proteínas depende fundamentalmente da sua composição (globular ou fibrosa), área superficial e solubilidade (McInerney, 1988). A presença de concentrações elevadas de amónia no líquido em digestão pode inibir o processo de hidrólise, uma vez que provocam uma redução da produção enzimática (El-Mashad *et al.*, 2004). Este autor verificou também que um decréscimo da temperatura do reactor em funcionamento afectou de modo mais significativo a fase de hidrólise comparativamente à fase de acidogénese e metanogénese.

A produção e a actividade das enzimas podem sofrer inibição derivada da acumulação dos produtos da hidrólise (Angelidaki e Sanders, 2004; Batstone *et al.*, 2000).

A hidrólise é geralmente a fase limitante da velocidade do processo anaeróbio quando o substrato em digestão é constituído por um teor elevado de sólidos e partículas como os efluentes de suínos, bovinos e lamas domésticas (Vavilin *et al.*, 1996). Quando são utilizados substratos de composição simples e facilmente biodegradáveis, a metanogénese ou a acetogénese apresentam-se, normalmente, como o passo limitante do processo anaeróbio (Vavilin *et al.*, 1997).

A baixa velocidade do processo de hidrólise pode resultar na acumulação de sólidos suspensos (SS), resultando numa diminuição da actividade metanogénica e na eficiência de remoção da carga orgânica (Miron *et al.*, 2000). Este autor efectuou um estudo em reactores completamente agitados, a 25°C e alimentados com lama primária, tendo verificado uma eficiência de conversão no processo de hidrólise de 20% e 60% para um tempo de retenção de sólidos (TRS) de 5 e 10 dias, respectivamente.

2.1.2- Acidogénese

Durante a acidogénese, ou fermentação ácida, os produtos resultantes da fase de hidrólise são degradados pelas BF, constituídas por uma série de estirpes bacterianas anaeróbias obrigatórias e facultativas. Estas bactérias possuem um metabolismo variado, apresentando diferentes vias de conversão donde resultam produtos fermentativos diversos (Dolfing, 1988), essencialmente AGV (propionato, butirato, valerato), succinato, lactato e álcoois (Schink, 1997).

Os aminoácidos podem ser oxidados por intermédio de um receptor externo de electrões (por exemplo H₂ ou carbonato), ou por intermédio de reacções de Stickland (Batstone *et al.*, 2003). Nas reacções de Stickland, um aminoácido funciona como dador de electrões, sendo degradado produzindo um ácido orgânico com menos um átomo de carbono que o aminoácido original, e outro aminoácido funciona como receptor de electrões, sendo degradado produzindo um ácido orgânico com o mesmo comprimento que o original. Diferentes aminoácidos podem desempenhar a função de receptor de electrões, dador de electrões, ou ambos.

A quantidade e o tipo de produtos obtidos na fase de acidogénese dependem fundamentalmente da pressão parcial de H₂ no digestor, que está associada à actividade de

bactérias utilizadores de hidrogénio, como por exemplo algumas espécies de BM e bactérias redutoras de sulfatos (BRS) (McInerney, 1999).

As BF possuem a capacidade de reoxidar o respectivo portador de electrões como o NADH_2 , através da redução de protões a H_2 . Esta reacção é favorável apenas em condições de baixa pressão parcial de H_2 (<10 Pa) (Schink, 1997). Nestas condições as BF reoxidam o NADH_2 principalmente por produção de H_2 , metabolizando o piruvato quase exclusivamente a acetato, CO_2 , e H_2 (Figura 2).

Em condições de pressão parcial de H_2 elevada, a produção de H_2 a partir do NADH_2 torna-se desfavorável (Schink, 1997), alterando o fluxo de electrões da produção de H_2 para a produção de produtos intermediários reduzidos como etanol, lactato, propionato, e butirato (Figura 2.2).

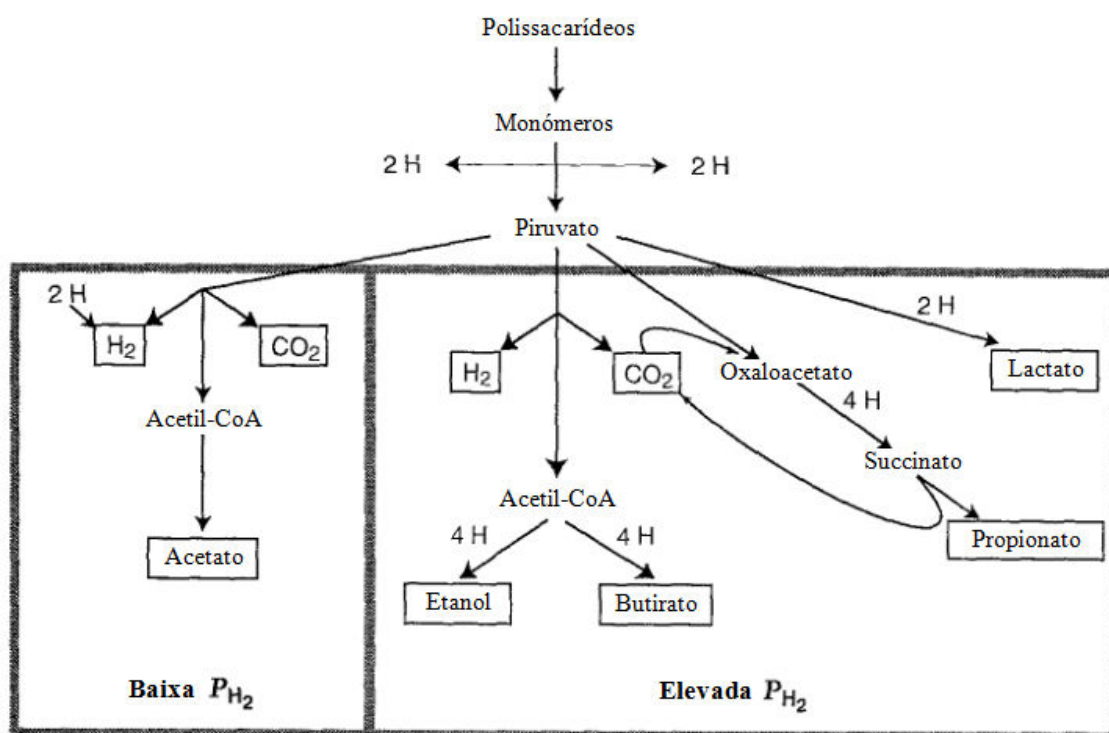


Figura 2.2 – Produtos do metabolismo fermentativo mediante a pressão parcial de H_2 (modificado de McInerney e Bryant, 1981).

Nos digestores anaeróbios em boas condições operacionais, a concentração de H_2 é normalmente muito baixa devido à enorme capacidade de utilização de H_2 por parte das bactérias utilizadoras de hidrogénio, seguindo principalmente a via metabólica que resulta na produção de acetato. A via metabólica de produção de produtos intermediários (AGV, álcoois, lactato), vai assumindo preponderância à medida que se verifica um aumento da pressão parcial de H_2 derivado, por exemplo, a um suplemento excessivo de substrato que vai inibir as

BMH devido a uma redução do valor de pH (<6), ou à presença de compostos tóxicos (Schink, 1997; Rodriguez *et al.*, 2005; Guwy *et al.*, 1997).

Em condições de pH baixo associado a uma elevada pressão parcial de H₂, verifica-se a produção de butirato como produto principal (Rodriguez *et al.*, 2006). Para valores de pH < 5, a produção de etanol aumenta (Ren *et al.*, 1997; Horiuchi *et al.*, 1999). Ao atingir um valor de pH=4 todo o processo fermentativo pode parar (Hwang *et al.*, 2004).

O efeito de concentrações crescentes de substrato tem um efeito análogo ao do abaixamento do pH, na medida em que o principal produto da degradação sofre uma alteração para a produção de acetato, depois para butirato e depois para etanol (Rodriguez *et al.*, 2006).

2.1.3- Acetogénese

Na acetogénese, as bactérias acetogénicas (BA) procedem à degradação dos compostos formados durante a fase anterior (acidogénese), como AGV (propionato, butirato, valerato), álcoois, alguns aminoácidos e compostos aromáticos. Os produtos resultantes da degradação destes compostos são H₂, formato, CO₂ e acetato, que vão servir de substrato para as BM (McInerney, 1999). O acetato e o propionato são os produtos intermediários que se encontram usualmente em maior quantidade nos digestores anaeróbios (Vavilin *et al.*, 1995).

A degradação do propionato é muitas vezes o passo limitante da velocidade de degradação do processo anaeróbio (Batstone *et al.*, 2003, Nielsen *et al.*, 2007), sendo este oxidado em acetato, bicarbonato, H₂ ou formato (De Bok *et al.*, 2004). A degradação do n-butirato e n-valerato procede via β -oxidação, produzindo acetato e acetato + propionato, respectivamente (Batstone *et al.*, 2003, Pind *et al.*, 2003a). O iso-butirato é degradado por intermédio de uma isomerização a n-butirato, para ser degradado posteriormente via β - oxidação (Angelidaki e Ahring, 1995), enquanto o iso-valerato é degradado exclusivamente a acetato (Pind *et al.*, 2003a).

No Quadro 2.1 são apresentadas as principais reacções associadas à fase de acetogénese.

Quadro 2.1 - Reacções associadas à degradação de AGV (Thauer et al., 1977; Schink, 1997; Batstone et al., 2002; Batstone et al., 2003b).

Substrato	Reacção	ΔG^0 (kJ/mol)	$\Delta G^{0'}$ (kJ/mol)
Propionato	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 3\text{H}_2 + \text{CO}_2$	+76.2	-14.6
<i>i</i>-butirato	$\text{CH}_3(\text{CHCH}_3)\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2$	+48.4	-25.9
Butirato	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2$	+48.4	-25.9
<i>i</i>-valerato	$\text{CH}_3(\text{CHCH}_3)\text{CH}_2\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \rightarrow 3\text{CH}_3\text{COOH} + \text{H}_2$	+20.2	-36.8

$\Delta G^{0'}$ para 25°C, pH 7, P_{H_2} 10-5 atm, P_{CH_4} 0,7 atm, ácidos orgânicos 1 mM, e HCO_3^- 0,1 M

O processo de conversão é favorável apenas quando se verifica uma pressão parcial de $\text{H}_2 < 10$ Pa para a degradação dos AGV e < 100 Pa para a degradação do etanol (Schink, 1997). A manutenção de condições de baixa pressão parcial de H_2 está dependente da actividade das bactérias utilizadoras de H_2 (Batstone *et al.*, 2006; Kotsyurbenko, 2005; Fukuzaki *et al.*, 1990), que estabelecem uma relação de cooperação sintrófica com as BA. Apesar do hidrogénio ser muito eficiente no transporte de electrões entre as diferentes bactérias que constituem a “simbiose sintrófica”, devido à sua reduzida dimensão e elevada difusibilidade, o formato também pode assumir a mesma função actuando de modo similar (Schink, 1997).

O efeito da pressão parcial de H_2 na taxa de degradação do etanol, butirato e propionato é demonstrado na Figura 2.3.

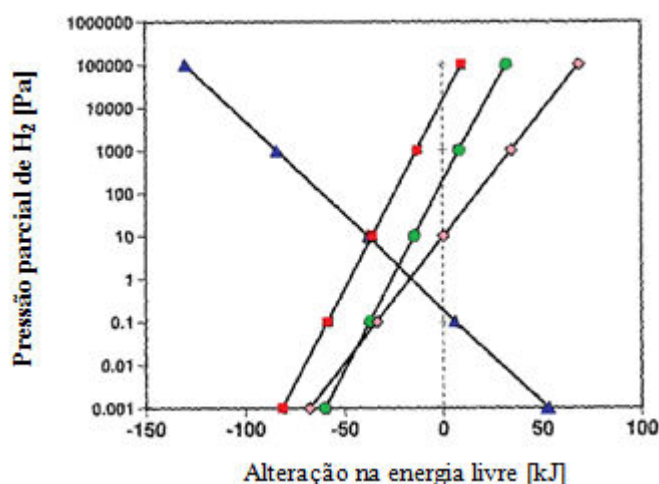


Figura 2.3 - Efeito da pressão parcial na alteração da energia livre; ▲: metanogénese hidrogenotrófica, ■: degradação do etanol, ◆: propionato, e ●: butirato por associações sintróficas; concentrações de etanol, propionato, butirato e acetato 0,1 mM, bicarbonato 50 mM, PCH₄ 50 kPa (McInerney, 1999).

Para além de beneficiarem da actividade das BMH no consumo do H₂, as BA beneficiam também da actividade das BMA, na medida em que a remoção do acetato é essencial para que a energia livre de Gibbs seja favorável para a ocorrência das reacções de oxidação dos AGV, uma vez que a acumulação de acetato pode causar um efeito bioquímico inibitório nas BA, podendo resultar na acumulação de AGV, nomeadamente propionato e butirato (McMahon *et al.*, 2001; Pind *et al.*, 2003a).

Fukuzaki *et al.* (1990) verificaram que a degradação do propionato pode sofrer inibição pela concentração do propionato, acetato e H₂. A inibição na degradação do propionato derivada da acumulação de acetato pode ser mais severa para valores de pH mais baixos (<6,5) (Fukuzaki *et al.* 1990; O'Flaherty *et al.* 1999). Lens *et al.* (1996) verificaram que ao submeter o digestor a uma sobrecarga de propionato e butirato (10 mM de cada) a taxa de degradação do propionato sofreu uma redução (de 1,1 mmol/(g SSV.d) para 0,8 mmol/(g SSV.d)), enquanto a do butirato não foi afectada (1,4 mmol/(g SSV.d)).

Mesmo com condições ideais (baixas concentrações de acetato e de H₂), a quantidade de energia disponível para suportar a formação de ATP e o crescimento microbiano é muito baixa (Schink, 1997). Esta é provavelmente a razão que explica as baixas taxas de crescimento verificadas nos consórcios sintróficos. A distância mínima entre os consórcios sintróficos no

digestor para a degradação eficaz do substrato é estimada em 11 μm (McCarty e Smith, 1986). A redução desta distância permite a maximização da taxa de transferência de metabolitos inter-espécies. A densidade celular da lama granular é extremamente elevada, pelo que a distância entre as células é muito baixa, permitindo uma rápida transferência de metabolitos entre os parceiros sintróficos. Este facto explica a eficiência superior na degradação de AGV que se verifica com a utilização de lama granular.

A temperatura é outro factor que influencia a termodinâmica das reacções de acetogénese. A formação de H_2 a partir da oxidação de ácidos orgânicos é energeticamente mais favorável a temperaturas mais elevadas, enquanto o consumo de H_2 pelas BM é menos favorável a temperaturas superiores. No entanto, a velocidade de degradação dos ácidos orgânicos aumenta normalmente com temperaturas mais elevadas devido ao aumento da actividade bacteriana, da sua taxa de crescimento e de degradação do substrato (De Bok *et al.*, 2004). Griffin *et al.*, (1998) verificaram que a digestão termofílica apresenta um desempenho mais eficaz comparativamente à mesofílica, proporcionando um aumento da taxa de degradação do propionato, para além de proporcionar uma maior resistência a choques de carga orgânica sem acumulação significativa de AGV e descida de pH. Este autor também verificou que o digestor termofílico apresentou maior quantidade de BMH do que o digestor mesofílico.

2.1.4- Metanogénese

As BM constituem um grupo diverso de microrganismos que obtêm energia para o crescimento a partir de reacções que conduzem à produção de metano. Durante a metanogénese, o acetato, H_2 , CO_2 , formato, metanol e metilamina são convertidos em CH_4 e CO_2 pelas BM (Ren *et al.*, 1997). As BM estão dependentes do bom funcionamento de todas as fases anteriores para o fornecimento dos substratos adequados para a sua actividade.

As BM dividem-se em 3 grupos tróficos que apresentam vias metabólicas diferentes: as BMA, que convertem o acetato em metano; as BMH que convertem o H_2 e CO_2 em metano, e as BHA que realizam a inter-conversão entre o acetato, H_2 e CO_2 (Quadro 2.2).

Quadro 2.2 - Reacções da fase de metanogénese (Thauer et al., 1977; Schink, 1997; Batstone et al., 2002).

	Reacção	ΔG° (kJ/mol)
Metanogénese hidrogenotrófica	$4\text{H}_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$	-135.0
Metanogénese acetoclástica	$\text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$	-31.0
Oxidação do acetato	$\text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 4\text{H}_2 + 2\text{CO}_2$	+104.0
Homoacetogénese	$4\text{H}_2 + 2\text{CO}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 2\text{H}_2\text{O}$	-104.0

A capacidade das BMH utilizarem H_2 tem um papel regulatório crucial no processo anaeróbio, na medida em que controla os produtos obtidos pela actividade das BF e estabelece as condições termodinâmicas requeridas para a degradação dos AGV e ácidos aromáticos (McInerney, 1999). Em condições normais de operação, a utilização do H_2 pelas BMH é mais favorável comparativamente à homoacetogénese, e a utilização do acetato pelas BMA é mais favorável comparativamente à sua oxidação em H_2 . As BMH exibem maior actividade em condições de elevada pressão parcial de H_2 (Schink, 1997).

Cerca de 60-90% do metano produzido em digestores anaeróbios resulta da degradação do acetato pelas BMA (Schulz *et al.*, 1997). A incapacidade das BMA em degradar o acetato pode resultar numa descida do pH e na paragem de todo o processo anaeróbio (Zinder, 1984). As BMA são particularmente sensíveis a determinadas condições ambientais como concentrações elevadas de amónia, sais e AGV (Demirel e Scherer, 2008; Schnürer *et al.*, 1999). Nestas situações, o acetato é convertido em H_2 para ser posteriormente convertido em metano pelas BMH (Schnürer *et al.*, 1999; McInerney, 1999). A actividade das BMA é independente da pressão parcial de H_2 .

O funcionamento das BHA não é totalmente conhecido. Em condições de baixo pH e/ou de temperatura reduzida (<20°C), as BHA podem competir com as BMH, convertendo o H_2 em acetato (Kotsyurbenko, 2005; Schink, 1997). Em condições de temperatura elevada (> 30°C), as BHA ganham competitividade sobre as BMA na oxidação do acetato em H_2 e CO_2 (Schink, 1997; Fey e Conrad, 2000). A actividade das BHA está dependente da manutenção de uma baixa concentração de acetato (Schink, 1997), e de baixa pressão parcial de H_2 (Schnürer *et al.*,

1999). Na Figura 2.4 encontra-se demonstrado o efeito da variação da temperatura na energética das reacções das várias espécies de BM, em condições de pressão parcial de hidrogénio elevada (1 atm) e baixa (10^{-4} atm).

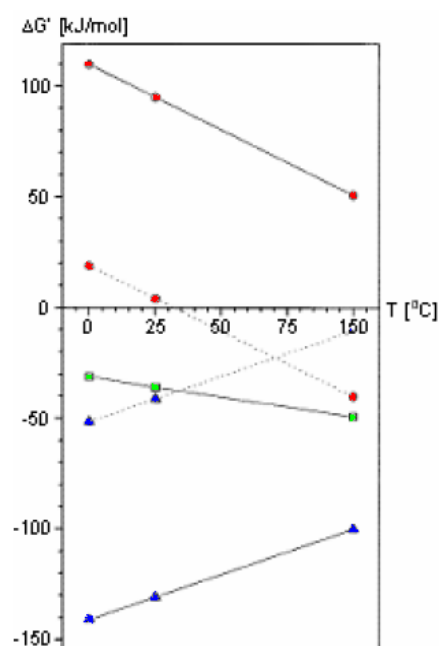


Figura 2.4- Influência da temperatura na energia livre de *Gibbs* associada ao metabolismo anaeróbio do acetato e H₂; linhas a cheio: Pressão parcial de H₂ = 1 atm; linhas a tracejado: Pressão parcial de H₂ = 10^{-4} atm; ■: metanogénese acetoclástica; ●: oxidação do acetato a H₂ e CO₂; ▲: metanogénese hidrogenotrófica (fonte: Schink, 1997).

A metanogénese é afectada pelas condições de operação do reactor como a temperatura, caudal de alimentação, carga orgânica na alimentação e composição da alimentação, afectando o equilíbrio entre BMA, BMH e BHA (Fey e Conrad, 2000; McHugh *et al.*, 2003).

2.1.5- Sulfidogénese

Durante o tratamento anaeróbio de efluentes com concentrações elevadas de sulfato (SO_4^{2-}), sulfito (SO_3^{2-}), ou outras formas oxidadas de enxofre, ocorre um passo complementar à metanogénese, designado por sulfidogénese, em que as BRS reduzem estes compostos convertendo-os em sulfuretos.

A produção de sulfuretos durante a sulfidogénese pode apresentar alguns problemas técnicos no funcionamento do processo anaeróbio, como por exemplo (Lens *et al.*, 1998):

- A presença de concentrações elevadas de sulfuretos apresentar efeitos tóxicos na actividade das BM, BA, e BRS;
- Parte da matéria orgânica da água residual será utilizada pelas BRS, reduzindo, consequentemente, o potencial de produção de metano por parte das BM. Para além disso a qualidade do biogás produzido fica reduzida devido ao aumento da fracção de H_2S no biogás resultante da produção de sulfuretos na fase líquida. A utilização do biogás fica, deste modo, dependente da remoção da fracção de H_2S ;
- Os sulfuretos, em concentrações elevadas, apresentam um odor desagradável e provocam problemas de corrosão em condutas, motores e queimadores. A minimização destes efeitos requer custos acrescidos de manutenção e de investimento;
- Parte dos sulfuretos estão presentes no efluente do reactor anaeróbio, provocando uma diminuição da eficiência do tratamento, uma vez que os sulfuretos contribuem para o CQO da água residual. Um tratamento suplementar subsequente torna-se um requisito obrigatório de modo a remover os sulfuretos.

No entanto, a ocorrência do processo de sulfidogénese apresenta algumas vantagens como a remoção dos compostos oxidados de enxofre (sulfato, sulfito e tiosulfato) do efluente e a remoção de metais pesados por precipitação com os sulfuretos, reduzindo o seu potencial tóxico (Visser e Hulshoff Pol, 1996; Hulshoff Pol *et al.*, 1998).

As BRS formam um grupo que apresenta uma enorme diversidade morfológica, ecológica, nutricional e metabólica (Hansen, 1993), sendo constituídas por eubactérias e arqueobactérias estritamente anaeróbias. As BRS degradam diversos produtos intermediários do processo de mineralização anaeróbio, como os substratos da metanogénese H_2 , formato, acetato, metanol e piruvato (Bock *et al.*, 1994), assim como propionato, butirato, AGVCL, lactato, etanol, fumarato, succinato, malato e compostos aromáticos (Colleran *et al.*, 1995).

Na presença de sulfato vai ocorrer uma competição entre as BRS e diferentes grupos de bactérias a vários níveis do processo de degradação anaeróbio (Colleran et al., 1995), como:

- Competição entre BRS e BF, pelos compostos monoméricos como açúcares e aminoácidos;
- Competição entre BRS e BAPH pelos produtos fermentativos intermediários como o propionato, butirato e etanol;
- Competição entre BRS e BHA pelo H_2 ;
- Competição entre BRS e BM pelos substratos da metanogénese (H_2 e acetato).

Os factores ambientais a que as bactérias estão sujeitas vão determinar o resultado desta competição, sendo o pH e a concentração de sulfuretos no líquido em digestão os factores de maior importância (O'Flaherty *et al.*, 1998a). Para valores de pH <7,0, as BM são favorecidas comparativamente às BRS, verificando-se o inverso para valores > 7,5 (Reis et al., 1988; O'Flaherty *et al.*, 1998a). As BM são mais sensíveis a aumentos de temperatura comparativamente às BRS (Oude Elferink *et al.*, 1994). A razão CQO/SO_4^{2-} é um factor preponderante na regulação da competição pelo substrato em ambiente sulfidogénico. Na prática, o tratamento anaeróbio não apresenta risco de entrar em inibição quando esta razão for superior a 10, uma vez que o valor crítico a partir do qual se verifica inibição por sulfuretos nunca será ultrapassado, devido ao efeito de *stripping* do biogás produzido (Sabumon, 2008). Para valores de CQO/SO_4^{2-} <10, o resultado da competição pelo substrato vai determinar a concentração dos produtos finais do processo de mineralização anaeróbio (metano e sulfuretos), assim como a viabilidade do tratamento metanogénico do efluente.

2.1.5.1- Competição entre BRS e BF

As BRS não apresentam vantagem competitiva relativamente às BF envolvidas na hidrólise de polímeros e degradação de monómeros, uma vez que as BF apresentam uma taxa de crescimento elevada (Postgate, 1984; Widdel, 1988). As BRS não possuem capacidade para hidrolisar polímeros. No entanto, existem algumas estirpes de BRS que apresentam actividade sulfidogénica e fermentativa em substratos como açúcares e aminoácidos.

2.1.5.2- Competição entre BRS e BAPH

A actividade das BRS no processo de mineralização de compostos intermediários como propionato, butirato, etanol e lactato, é bastante complexa, envolvendo diferentes associações de cooperatividade que dependem da concentração de sulfatos e sulfuretos presentes no meio, da concentração do substrato e da pressão parcial de H_2 (Widdel 1988).

Em teoria, durante a degradação dos produtos intermediários da DA, as BRS podem estar envolvidas em 4 vias metabólicas diferentes (Colleran *et al.*, 1995):

- Oxidação completa dos produtos intermediários da fermentação em CO_2 , HCO_3^- e sulfuretos;
- Oxidação incompleta dos produtos intermediários em acetato e CO_2 pelas BRS, simultaneamente à conversão do acetato pelas BMA;
- Degradação sintrófica dos produtos intermediários da fermentação pelas BAPH com utilização de H_2 pelas BRS;
- Crescimento fermentativo das BRS em substratos como propionato e etanol, na ausência de sulfato e em associação sintrofica com BMH e BMA.

A oxidação sulfidogénea dos produtos fermentativos intermediários (propionato e butirato) pelas BRS é favorecida relativamente à via sintrofica pelas BAPH (Omil *et al.*, 1996; Colleran *et al.*, 1998), uma vez que a actividade da maioria das BRS é independente da pressão parcial de H_2 conferindo-lhes uma maior vantagem competitiva.

Na presença de sulfato é de prever que as BRS, que realizam a oxidação incompleta, ganhem vantagem competitiva relativamente às BRS que realizam a oxidação completa, devido à sua taxa de crescimento superior (Widdel, 1988; McCartey e Oleszkiewicz, 1993).

Segundo Laanbroek *et al.* (1984), a afinidade das BRS para com o substrato segue a ordem: H_2 > propionato > butirato > etanol. Na presença de baixas concentrações de sulfato, as BRS degradam o lactato e etanol, em sintrofia com as BMH (Archer, 1983).

A degradação do butirato e de AGVCL ocorre por uma reacção de β -oxidação, tanto pela via de oxidação completa como incompleta (Colleran *et al.*, 1995). Um elevado número de BRS que

realizam a oxidação completa e incompleta possuem a capacidade de desenvolver crescimento somente com H_2 como fonte de energia.

As BRS desempenham um papel importante na degradação do propionato na presença de concentrações elevadas de sulfato, tanto pela via sintrofica com BAPH, onde as BRS utilizam o H_2 , como pela via da oxidação directa do propionato a acetato (Harada *et al.*, 1994; O'Flaherty *et al.*, 1998b).

O'Flaherty *et al.* (1999) verificaram que uma concentração de 300 mg/l de acetato provocou uma inibição na eficiência de degradação do propionato por parte das BRSA, sendo que esta recuperava com a remoção do acetato por parte das BMA. Neste estudo também se verificou que uma descida do valor de pH de 8,0 para 6,5 provocou um aumento do efeito tóxico.

2.1.5.3- Competição entre BRS e BHA

Do ponto de vista termodinâmico e de afinidade para com o substrato, as BRSH têm, teoricamente, vantagem competitiva sobre as BHA. No entanto, Zehnder e Stumm (1988) sugeriram que a versatilidade apresentada pelas BHA, que realizam tanto crescimento autotrófico como heterotrófico numa diversa gama de substratos, é um factor determinante na permanência da sua actividade na ocorrência de sulfidogénese. As condições em que ocorre a competição entre estes grupos de bactérias ainda não são totalmente conhecidas (Colleran *et al.*, 1995).

2.1.5.4- Competição entre BRS e BM

Devido à versatilidade metabólica das BRS, tanto as BMA como as BMH são afectadas com a actividade deste tipo de bactérias que está dependente da concentração de sulfato no líquido em digestão (Omil *et al.*, 1996). Com a ocorrência da sulfidogénese, verifica-se uma competição entre estes grupos de bactérias pelos principais produtos intermediários do processo de digestão anaeróbia, o acetato e o H_2 (Colleran, 1995; Visser e Hulshoff Pol, 1996).

Em termos cinéticos e termodinâmicos prevê-se uma vantagem competitiva das BRS sobre as BM na utilização do H_2 (Visser e Hulshoff Pol, 1996), uma vez que as BRSH apresentam uma maior afinidade relativamente ao substrato, taxa de crescimento e rendimento celular

superiores comparativamente às BMH (Oude Elferink *et al.*, 1994; Colleran *et al.*, 1995; Visser e Hulshoff Pol, 1996). Para além disso, as BRSH mantêm a concentração parcial de H_2 a níveis extremamente baixos que impossibilitam a utilização deste substrato por parte das BMH (Colleran *et al.*, 1998; Visser e Hulshoff Pol, 1996). No tratamento de efluentes com uma concentração elevada de sulfato, a oxidação do H_2 é catalisada quase exclusivamente pelas BRS, em detrimento das bactérias metanogénicas hidrogenotróficas (O'Flaherty *et al.*, 1999). A temperatura pode ter impacto no resultado de competição entre as BRSH e as BMH. Segundo Colleran e Pender (2002), as BRSH são favorecidas em condições mesófilas (37°C), enquanto as BMH são favorecidas em condições termófilas (55°C).

Relativamente à competição das BRS e BM pela utilização do acetato, não existe consenso entre os autores, sendo que alguns sugerem a utilização preferencial do acetato por parte das BRS, enquanto outros (em maioria) apontam uma vantagem competitiva das BMA na utilização deste substrato (Colleran *et al.*, 1995).

Do ponto de vista cinético e termodinâmico, as bactérias redutoras de sulfato acetotróficas (BRSA) possuem vantagem sobre as BMA na competição pelo acetato (Lens *et al.*, 1998), uma vez que apresentam um maior benefício energético resultante da degradação do acetato comparativamente às BMA, para além de possuírem uma taxa de crescimento superior, especialmente quando expostas a uma concentração de acetato baixa (Oude Elferink *et al.*, 1994; Colleran *et al.*, 1995; Visser e Hulshoff Pol, 1996).

No entanto, diversos estudos verificaram um predomínio das BMA comparativamente às BRSA (Hirasawa *et al.*, 2008; Colleran *et al.*, 1998; Bhattacharya *et al.*, 1996).

Alguns autores sugerem que as BRS são mais sensíveis aos efeitos tóxicos derivados da produção de sulfuretos do que as BM (Maillacheruvu e Parkin, 1996; Lopes *et al.*, 2007), o que poderá explicar o predomínio das BMA.

Os factores que podem influenciar a competição entre BRS e BM pelo acetato são a concentração de acetato, concentração de sulfato, propriedades de imobilização das bactérias, tipo de substrato, tempo de digestão, concentração de nutrientes, temperatura, pH, presença de compostos tóxicos (Visser e Hulshoff Pol, 1996) e o potencial redox (Bhattacharya *et al.*, 1996).

Segundo Chou *et al.* (2008), o resultado da competição entre BRS e BM pela utilização do acetato depende significativamente da razão CQO/SO_4^{2-} do afluente, constituído, neste estudo, pelo efluente de uma fábrica de curtumes. Estes autores verificaram que o acetato era

maioritariamente utilizado pelas BRS para valores de $CQO/SO_4^{2-} < 1,1$, enquanto as BM apresentaram vantagem competitiva na utilização do acetato para valores de $CQO/SO_4^{2-} > 1,3$. Estes dados são concordantes com os de Bhattacharya (1996).

A vantagem competitiva das BMA comparativamente às BRS em reactores com retenção de biomassa pode ser explicada pela capacidade superior das BMA em colonizar materiais de suporte (Isa et al. 1986; Omil et al., 1996). Yoda et al. (1987) concluíram que as BMA predominavam devido à sua taxa de crescimento superior comparativamente às BRS, para uma concentração de acetato superior a 8 mg CQO/l.

Bhattacharya et al. (1996) verificaram que uma descida do potencial redox (de -75 mV para -175 mV) provocou uma redução da percentagem de acetato utilizado pelas BRS (35 para 19%), resultando, consequentemente, numa vantagem competitiva para as BM.

2.2. Factores ambientais que interferem com o processo

Em todos os processos de tratamento biológicos de águas residuais, a remoção eficaz de poluentes e contaminantes depende, não só do potencial metabólico dos microrganismos, mas também da existência de condições ambientais adequadas que permitam a sua actividade.

2.2.1- Temperatura

O controlo da temperatura é crucial para o bom funcionamento do processo, uma vez que este parâmetro influencia a actividade biológica dos microrganismos e, consequentemente, a velocidade a que ocorre o processo de digestão e de biodegradação dos compostos (Angelidaki e Sanders, 2004).

A DA é um processo aplicado numa gama variada de temperatura, tais como: regime psicrófilo (<20°C), regime mesófilo (25-40°C), e regime termófilo (45-60°C).

A utilização de temperaturas elevadas no processo (regime termófilo) apresenta algumas vantagens, tais como (Van Lier, 1995): a) Aumentar a solubilidade dos compostos orgânicos, facilitando a sua assimilação pelos microrganismos; b) Aumentar as taxas das reacções químicas e biológicas, acelerando o processo de conversão e permitindo a utilização de reactores de menores dimensões e com um TRH inferior; c) Permitir melhorar a difusibilidade

dos substratos solúveis, aumentar a taxa de transferência da fase líquida para a fase gasosa devido à diminuição da solubilidade da fase gasosa; d) Diminuir a viscosidade da fase líquida, diminuindo os requisitos energéticos para a sua mistura por agitação, para além de melhorar a separação da fase líquida da fase sólida da biomassa; e) Aumentar a taxa de destruição de bactérias patogénicas, especialmente nos casos de operação em regime termófilo.

No entanto, a utilização de temperaturas elevadas também apresenta algumas desvantagens, tais como (Mara e Horan, 2003; Duran e Speece, 1997; Sung e Liu, 2003): a) Aumentar a fracção de amónia livre (NH_3) que é inibitória para os microrganismos; b) Aumentar a forma não dissociada de AGV; c) Requerer quantidades elevadas de energia para a manutenção da temperatura; d) Proporcionar um sobrenadante de pior qualidade com quantidades elevadas de sólidos dissolvidos; e) Gerar um maior potencial de ocorrência de problemas de odores; f) A estabilidade do processo é bastante inferior comparativamente à do regime mesófilo.

Como tal, a utilização de temperaturas termófilas exige maior controlo do processo, comparativamente à digestão mesófila. A manutenção de uma temperatura constante no digestor é crucial para o bom funcionamento do processo anaeróbio, uma vez flutuações pontuais e/ou frequentes na temperatura do digestor podem provocar efeitos severos nas bactérias, particularmente nas metanogénicas.

Para além disso, a temperatura tem um efeito significativo na pressão parcial do H_2 , influenciando a cinética do metabolismo sintrófico. Em condições padrão, as reacções endotérmicas como a degradação do propionato em acetato, CO_2 e H_2 , tornam-se reacções energeticamente mais favoráveis a temperaturas superiores, enquanto reacções exergónicas, como a metanogénese hidrogenotrófica, são desfavorecidas a temperaturas superiores (McInerney, 1999).

2.2.2- TRH

O TRH é um parâmetro fundamental para o dimensionamento de um sistema de tratamento anaeróbio, e exprime o tempo médio que um determinado volume de efluente permanece no digestor. Para um reactor com um volume V (m^3), sujeito a uma alimentação com um caudal Q (m^3/d), o TRH é dado pela seguinte expressão:

$$TRH = V/Q$$

O TRH deve ser sempre superior ao tempo de duplicação das bactérias de crescimento lento, nomeadamente das BM, de modo a garantir a degradação da matéria orgânica com a permanência de um quantitativo suficiente e equilibrado de microrganismos no digestor.

A maximização do TRH é preferível para uma maior estabilidade do processo e a minimização da produção de lamas (Speece, 1983).

2.2.3- pH e alcalinidade

O pH tem um efeito na actividade enzimática dos microrganismos. Cada enzima apresenta actividade para uma determinada gama de pH, exibindo actividade máxima a um valor de pH óptimo (El-Mashad *et al.*, 2004). Cada grupo de microrganismos possui uma gama diferente de pH óptimo. As BM actuam num intervalo estreito de pH (entre 5,5-8,5), com um pH óptimo entre 6,5-8 (Nielson, 2006). As BF actuam numa gama de pH mais ampla, suportando valores entre 4-8,5 (Hwang *et al.*, 2004).

Horiuchi *et al.* (2002) realizaram um estudo de fermentação de glucose, tendo verificado que para uma gama de pH 5-7, os produtos principais eram acetato e butirato, enquanto para um valor de pH de 8, os principais produtos eram ácido acético e propionato. Este fenómeno era reversível, tendo-se concluído que os diferentes produtos obtidos se deveram à alteração da população microbiana em consequência da subida do valor de pH.

O valor do pH afecta o equilíbrio ácido-base dos compostos no digestor. Para valores de pH baixos, os AGV livres podem causar inibição por ácidos fracos, enquanto para valores de pH elevados, a amónia livre pode causar inibição por bases fracas. Em digestores anaeróbios de cultura mista, a gama óptima de pH situa-se entre 6,6-7,4 (Moosbrugger *et al.*, 1993).

A capacidade tampão do líquido em digestão é um parâmetro importante para a estabilidade do processo. A capacidade tampão pode ser definida como a resistência de uma solução a mudanças de pH. Os principais compostos que contribuem para o efeito tampão são o bicarbonato e os AGV (Moosbrugger *et al.*, 1993). Outros compostos que influenciam o balanço do pH, quando presentes em concentrações elevadas, são as várias formas de amónia (NH_4^+ , NH_3), sulfuretos (H_2S , HS^- , S_2^{2-}) e fosfatos (H_3PO_4 , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-}). Os efluentes de pecuárias (vacarias e suiniculturas) possuem normalmente uma elevada capacidade tampão,

devido à elevada concentração de compostos de amónia, tornando o pH estável entre 7,5-8 (Pind *et al.*, 2003b).

2.2.4- Agitação

A agitação adequada do digestor é fundamental para o funcionamento óptimo do processo de digestão anaeróbia. A agitação tem a função de melhorar o contacto entre o substrato do afluente com a biomassa no interior do digestor, possibilitando condições uniformes de temperatura e de concentração de substrato (Ward *et al.*, 2008). Para além disso, a agitação evita a formação de camadas de espuma superficiais e a deposição de lama no fundo do digestor (Appels, 2008). Os métodos de agitação auxiliares utilizados vulgarmente são a recirculação exterior da lama, agitação mecânica interna, ou injeção interna do biogás produzido (Igoni *et al.*, 2008). A injeção interna do biogás é um método eficaz para evitar a formação de uma camada superficial de espuma. A formação de espuma no digestor tem que ser controlada uma vez que esta impede a libertação do biogás do meio líquido, causando a sua sobretensão no digestor (Appels, 2008).

Em diversos estudos efectuados em digestores completamente agitados concluiu-se que a intensidade de agitação do líquido em digestão tem influência na inibição do processo, assim como na sua recuperação após um desequilíbrio causado por sobrecarga orgânica (McMahon *et al.*, 2001; Stroot *et al.*, 2001; Vavilin e Angelidaki, 2005). Stroot *et al.* (2001) estudaram a acumulação de acetato e propionato durante o tratamento de resíduos sólidos municipais e biosólidos em digestores completamente agitados. Durante o arranque do processo, o digestor foi sujeito a uma sobrecarga orgânica agressiva, verificando-se que o acetato era eventualmente consumido, enquanto o propionato persistia no digestor, verificando-se apenas uma descida da sua concentração associada a uma redução na intensidade da agitação. Concluiu-se também que os digestores sujeitos a uma agitação de baixa intensidade toleravam melhor cargas orgânicas superiores comparativamente a outros com elevada agitação. Vavilin e Angelidaki (2005) testaram o tratamento de resíduos sólidos municipais com estrume de vaca, concluindo que o fornecimento de cargas orgânicas elevadas associadas a um nível de agitação elevado resultava na acidificação e paragem do processo, e que uma agitação do digestor de baixa intensidade era crucial para o bom funcionamento do processo. Stroot *et al.* (2001) sugere que a inibição resultante da aplicação de agitação com intensidade elevada estava associada à inibição da oxidação sintrófica de AGV, derivada da disrupção espacial justaposta das bactérias sintróficas e dos seus parceiros metanogénicos.

2.2.5- Nutrientes (Razão Carbono/Azoto)

A concentração de nutrientes presente no digestor tem uma importância crucial no desempenho do processo, uma vez que são essenciais para assegurar o crescimento microbiano e a síntese de enzimas e cofactores indispensáveis para as reacções bioquímicas e metabólicas. Os nutrientes necessários em maior quantidade (macronutrientes), durante o processo anaeróbio, são o azoto, fósforo e enxofre (Mara e Horan, 2003). As concentrações de carbono e azoto determinam, muitas vezes, o desempenho do processo de DA, uma vez que um destes elementos constitui normalmente um factor limitante. No processo de DA, o carbono constitui a fonte de energia para os microrganismos, enquanto o azoto estimula o crescimento microbiano. Se a concentração de azoto for limitante, as populações microbianas permanecem em número reduzido demorando mais tempo a decompor o carbono disponível. Durante o processo de DA, as bactérias utilizam o carbono disponível no meio cerca de 30 a 35 vezes mais rapidamente comparativamente à taxa com que as bactérias convertem o azoto. Por esta razão, para a operação óptima do digestor, a razão carbono/azoto presente no inóculo deve ser na ordem de 30:1 (Igoni *et al.*, 2008).

2.2.6- Toxicidade e inibição

Existem diversos compostos que potencialmente podem ser inibitórios ao processo anaeróbio, como alguns compostos que fazem parte do substrato no afluente, ou sub-produtos resultantes do metabolismo das bactérias. Estes compostos podem abrandar o processo de degradação (toxicidade), ou causar a paragem do processo (inibição). Alguns compostos responsáveis por estes fenómenos são amónia, sulfuretos, metais pesados, metais alcalinos e metais alcalino-terrosos (Mara e Horan, 2003).

2.2.6.1- Amónia

A amónia é um composto libertado durante a hidrólise através da degradação biológica da matéria azotada que se encontra presente essencialmente na forma de proteínas e ureia (Kayhanian, 1999; Borja *et al.*, 1996). Apesar da amónia ser essencial para o crescimento bacteriano, este pode inibir o processo de DA quando presente em concentrações elevadas (Nielsen e Angelidaki, 2008).

O ião amónio (NH_4^+) e a amónia livre (NH_3) são as duas formas predominantes de azoto inorgânico presente no líquido em digestão (Omil *et al.*, 1995). A amónia livre é a forma mais tóxica, devido ao facto de possuir a capacidade de penetrar as paredes das células por difusão passiva, causando uma desregulação no balanço protónico e/ou uma deficiência em potássio (Kayhanian, 1999; Chen *et al.*, 2008). A forma ionizada (NH_4^+) apresenta um efeito benéfico para o processo associada à produção de hidróxido que reage com o CO_2 no gás, formando bicarbonato. A produção de bicarbonato é importante uma vez que aumenta a capacidade tampão do líquido em digestão.

A concentração de amónia livre depende fundamentalmente da concentração total de amónia ($\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$), da temperatura, do pH (Hansen *et al.*, 1998) e da pressão do CO_2 (Vavilin *et al.*, 1995). Um aumento de temperatura e /ou uma subida do valor de pH provocam um aumento do nível de toxicidade associada ao aumento da fracção de amónia livre comparativamente à forma ionizada (Borja *et al.*, 1996). Uma diminuição da pressão parcial de CO_2 tem o mesmo efeito (Vavilin *et al.*, 1995).

Concentrações elevadas de compostos de amónia fazem subir o valor de pH, inibindo as BM. A inibição das BM provoca a acumulação de AGV tornando o processo de digestão instável. A acumulação de AGV provoca uma descida do pH e, conseqüentemente, diminui a concentração de amónia livre (Chen *et al.*, 2008; Vavilin *et al.*, 1995). Com esta sucessão de fenómenos o processo de digestão permanece estável, embora com uma produção de metano inferior devido à inibição das BM.

A inibição por compostos de amónia é particularmente relevante durante a digestão anaeróbia de excrementos bovinos e suínos, derivado da sua concentração exceder usualmente 4 g-N/l (Hansen *et al.*, 1998).

Borja *et al.* (1996) efectuaram um estudo de digestão anaeróbia com excrementos de bovino em reactores do tipo UASB, a 55°C, e a pH=7,2, tendo verificado que elevadas concentrações de amónia causam um efeito inibitório mais intenso nas BMA comparativamente às BMH. Neste estudo, a actividade específica das BMA sofreu uma redução de 50% para uma concentração de amónia de 4 g-N/l, enquanto para as BMH a mesma redução só se verificou a uma concentração de 7,5 g-N/L.

Nielsen e Angelidaki (2008) avaliaram a toxicidade provocada pela amónia durante a digestão de excrementos de bovino em reactores completamente agitados a 55°C, tendo verificado que o efeito inibitório nas BM iniciou-se a partir de uma concentração de 1,2 g-N/l. Estes dados são concordantes com os de Hansen *et al.* (1998) que verificaram um decréscimo da taxa de crescimento dos microrganismos a partir de uma concentração de amónia livre de 1,1 g-N/l.

Contudo, é possível a manutenção do processo de DA de efluentes suinícolas mesmo a uma concentração de amónia de 6 g-N/L, apesar do processo evidenciar sinais claros de inibição, como a redução do potencial em metano e uma elevada concentração de AGV (Hansen *et al.*, 1999).

Liu e Sung (2003), verificaram que concentrações de azoto amoniacal de 4,92 e 5,77 g/l provocaram, respectivamente, uma diminuição de 39 e 64% na actividade metanogénica em reactores anaeróbios termófilos (55°C) de mistura completa. Neste estudo verificou-se uma inibição de 100% das BMA a uma concentração de azoto amoniacal compreendida entre 8 a 13 g/l, dependendo das condições de aclimação e do pH do sistema. Estes autores também sugeriram que concentrações de azoto amoniacal inferiores a 1,50 g/l são benéficas para o processo de digestão anaeróbia uma vez que o azoto é um nutriente essencial para os microrganismos anaeróbios.

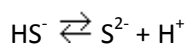
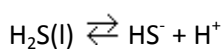
As diferenças significativas verificadas nos valores de concentração de amónia a partir dos quais se verifica inibição, podem ser atribuídas aos diferentes tipos de substrato e inóculo utilizados no processo, condições ambientais (temperatura e pH) e diferentes períodos de aclimação.

2.2.6.2- Sulfuretos

Em termos energéticos, o sulfureto é a forma mais estável do enxofre em ambiente anaeróbio. O sulfureto é altamente reactivo, corrosivo e tóxico para microrganismos, plantas, animais e para o homem (Widdel, 1988). Consequentemente, os problemas associados ao tratamento de águas residuais com uma concentração elevada em sulfatos derivam essencialmente da produção de sulfuretos pelas BRS. A inibição causada pela redução do sulfato a sulfuretos ocorre em 2 fases: inibição primária devido à competição pelas BRS pelo mesmo substrato orgânico e inorgânico, acabando por suprimir a produção de metano (Harada *et al.*, 1994); e

inibição secundária resultante da toxicidade dos sulfuretos produzidos para diversos grupos de bactérias (Colleran *et al.*, 1998). O resultado da competição entre as BRS e os outros microrganismos anaeróbios determina a concentração de sulfuretos no reactor. Os sulfuretos são tóxicos tanto para as BM como para as BRS (Okabe *et al.*, 1995).

Os sulfuretos produzidos em reactores anaeróbios encontram-se distribuídos em solução em várias formas distintas: S^{2-} , HS^- e H_2S em solução; H_2S no biogás; e ainda sulfuretos metálicos insolúveis de acordo com o equilíbrio químico e físico. O sulfureto em solução é um ácido fraco e dissocia-se da seguinte forma:



Consequentemente, pequenas variações no valor do pH, numa gama compreendida entre 6 e 8, têm um efeito significativo na concentração de H_2S (Visser e Hulshoff Pol, 1996), como se visualizar na Figura 2.5.

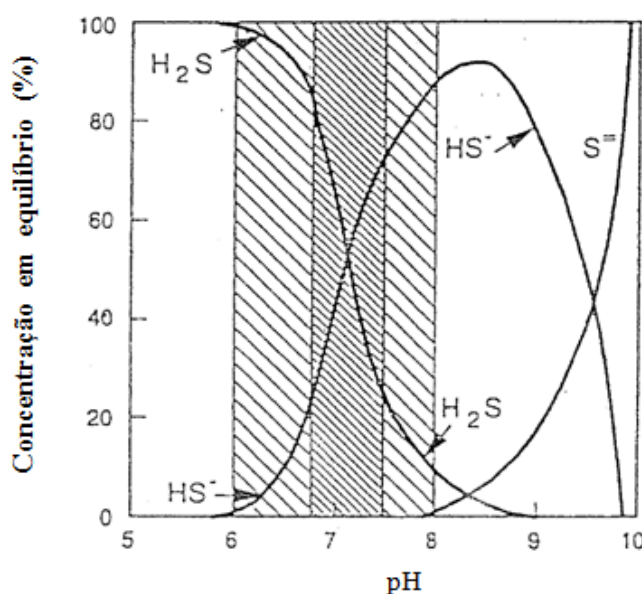
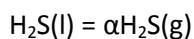


Figura 2.5- Prevalência das diferentes formas de sulfuretos para diferentes valores de pH; ▨: gama de pH da digestão anaeróbia, ▩: pH óptimo para a metanogénese (Lens *et al.*, 1998a).

O efeito inibitório causado por sulfuretos é atribuído particularmente à forma não dissociada de H_2S , pelo facto de apenas moléculas neutras possuírem a capacidade de atravessar as

membranas celulares alterando o pH intracelular, causando a desnaturação das proteínas e do metabolismo das co-enzimas (Speece, 1983; Lens *et al.*, 1998). O H₂S pode também ser responsável por interferir com o metabolismo de assimilação do enxofre (Visser e Hulshoff Pol, 1996)

O equilíbrio entre o H₂S em solução e o H₂S na fase gasosa é regido pela lei de Henry:



Nos quadros 2.3 e 2.4 é apresentada a revisão bibliográfica efectuada relativa às concentrações de sulfuretos responsáveis pela inibição das BM e BRS.

Quadro 2.3- Concentrações de sulfuretos na forma não ionizada (H₂S) e sulfuretos totais (ST) responsáveis pela inibição das BM

Tipo de lama	Substrato	% inibição	T (°C)	pH	H ₂ S (mg/l)	ST (mg/l)	Referência
granular	acetato	50	55	7,6-8,0	8-17	300	Pender <i>et al.</i> , 2004
granular	acetato	100	30	7,0-8,0	50-200	-	Omil <i>et al.</i> , 1996
granular	Hac, Hbu, Hpr	100	30	8,0	120	-	Lens <i>et al.</i> , 1998b
granular	acetato	50	37	6,8-8,5	17-258	568-877	O'Flaherty <i>et al.</i> , 1998a
granular	H ₂ , CO ₂	50	37	6,8-8,5	23-252	467-1167	O'Flaherty <i>et al.</i> , 1998a
biofilme	Propionato	50	37	8,0	102	1455	O'Flaherty <i>et al.</i> , 1999
biofilme	acetato	50	37	6,5-8,0	69-150	220-980	O'Flaherty <i>et al.</i> , 1999
biofilme	butirato	50	37	8,0	77	1100	O'Flaherty <i>et al.</i> , 1999
suspensa	acetato	50	55	6,3-7,2	18-21	33-78	Visser <i>et al.</i> , 1993a
suspensa	acetato	50	55	8,0	24	400	Visser <i>et al.</i> , 1993a
suspensa	acetato	50	35	6,5-7,4	125	-	Oleszkiewicz <i>et al.</i> , 1989
suspensa	acetato	50	35	7,7-7,9	100	-	Oleszkiewicz <i>et al.</i> , 1989

As BF e BA são menos sensíveis à inibição provocada por sulfuretos comparativamente às BM (O'Flaherty *et al.* 1998b).

Quadro 2.4- Concentrações de sulfuretos na forma não ionizada (H₂S) e sulfuretos totais (ST) responsáveis pela inibição das BRS

Tipo de lama	Substrato	% inibição	T (°C)	pH	H ₂ S (mg/l)	ST (mg/l)	Referência
granular	lactato	93	32	7,0	-	200	Garcia-Saucedo <i>et al.</i> , 2008
<i>Desulfavibrio desulfuricans</i>	lactato	50*	35	7,0	-	250	Okabe <i>et al.</i> , 1995
granular	acetato	50	37	6,8-8,5	20-202	374-1011	O'Flaherty <i>et al.</i> , 1998a
granular	H ₂ , CO ₂	50	37	6,8-8,5	25-273	505-1246	O'Flaherty <i>et al.</i> , 1998a
granular	propionato	50	37	6,8-8,5	11-177	328-559	O'Flaherty <i>et al.</i> , 1998a
granular	butirato	50	37	6,8-8,5	41-320	593-2059	O'Flaherty <i>et al.</i> , 1998a
granular	etanol	50	37	6,8-8,5	23-303	561-1164	O'Flaherty <i>et al.</i> , 1998a

O grau de inibição provocado pelos sulfuretos depende do pH, temperatura, concentração de iões metálicos e tipo de digestor (Mara e Horan, 2003).

A biomassa imobilizada é mais resistente à ocorrência de inibição comparativamente à biomassa em suspensão (Hansen *et al.*, 1999). A imposição de um período de adaptação das BM ao H₂S permite uma maior tolerância à sua toxicidade, particularmente em digestores de biomassa fixa (Chen *et al.*, 2008).

Algumas das técnicas utilizadas para a remoção de sulfuretos incluem processos físico-químicos (*stripping*), reacções químicas (coagulação, oxidação, precipitação), ou conversões biológicas (oxidação parcial a enxofre elementar) (Oude Elferink *et al.*, 1994; Song *et al.*, 2001). No entanto, a maior parte destes métodos não são economicamente viáveis (Sabumon, 2008).

A produção de sulfuretos pode apresentar efeitos benéficos no processo de DA, como provocar a precipitação de metais pesados tóxicos, como crómio, cobre e zinco, cujos precipitados são bons precursores para a formação de grânulos (Hulshoff Pol *et al.*, 1998), para além de aumentarem a alcalidade no digestor derivada da produção de bicarbonato (Sahinkaya *et al.*, 2006).

2.2.6.3-AGV

Os AGV são os principais produtos intermediários formados durante o processo de DA. Para valores baixos de pH, os AGV tornam-se tóxicos devido ao aumento da fracção não dissociada. A fracção não dissociada possui a capacidade de atravessar as membranas celulares, dissociando-se no interior, provocando uma descida do pH intracelular (Chen *et al.*, 2008). Para além do pH, a concentração inibitória de AGV depende também do poder tampão no reactor (Björnsson *et al.*, 2000).

Concentrações elevadas de AGVs no líquido em digestão são resultado de perturbações que se verificam no processo, nomeadamente variações na temperatura, sobrecarga orgânica, ou presença de compostos tóxicos. Nestas situações, as BM são incapazes de remover o hidrogénio e os AGV produzidas pelas BF e BA. Face a esta situação, ocorre a acumulação de ácidos no digestor que leva a uma descida do pH a níveis que podem ser inibitórios para as BM, que ficam ainda mais inibidas. A acumulação de ácidos no digestor pode resultar na paragem de todo o processo.

Aguilar *et al.* (1995) realizaram um estudo com o objectivo de avaliar a velocidade de degradação dos AGV utilizando glucose e acetato como fonte de carbono. Concluíram que o reactor inoculado com glucose proporcionou o desenvolvimento de uma comunidade bacteriana capaz de degradar os produtos intermediários eficazmente, o que não se verificou no reactor inoculado com acetato. O tempo de degradação necessário para a degradação de 2 g/l de propionato no reactor inoculado com acetato foi de 34 dias, enquanto no reactor inoculado com glucose foi de apenas 150 h. Concluiu-se que a quantidade e o tipo de populações bacterianas que se desenvolvem durante o arranque do processo são factores muito importantes para a conversão rápida e completa dos produtos ácidos intermediários.

A concentração de acetato no digestor não deve exceder os 500 mg/l, devendo até estar abaixo dos 250 mg/l de modo a assegurar o funcionamento estável do processo anaeróbio. Concentrações de acetato superiores a 500 mg/l indicam a ocorrência de uma sobrecarga orgânica ou a inibição do sistema (Anderson *et al.*, 1982).

Mechichi e Sayadi (2005) estudaram a toxicidade provocada por AGV durante a digestão de um efluente resultante da trituração da azeitona, num reactor de filtro anaeróbio de fluxo

ascendente, a 35°C. Estes autores registaram os primeiros indícios de inibição (diminuição na produção de metano), para uma concentração de acetato > 125 mM, de propionato e butirato > 100 mM e de valerato > 50 mM.

Nielsen *et al.* (2007), efectuaram um estudo de co-digestão de excrementos de bovinos e de suínos em conjunto com farinha de carne e ossos, em reactores completamente agitados a uma temperatura de 53°C e pH = 7,87. Estes autores verificaram uma diminuição na produção de biogás devido a acumulação de AGV associada à aplicação de um choque de carga orgânica no digestor. A inibição verificou-se a partir de uma concentração de acetato > 45mM, propionato > 15 mM, iso-valerato > 2,0 mM, iso-butirato > 1,0 mM, butirato > 0,75 mM, e valerato > 0,5 mM.

Siegert e Banks (2005) efectuaram um estudo com lama doméstica, a 35°C e pH 7,2, tendo verificado a inibição da fase de hidrólise da celulose para uma concentração total de AGV > 2 g/l. Estes autores verificaram um decréscimo da fracção de metano no biogás, associada à inibição das BM, para valores de AGV superiores a 6 g/l.

O mecanismo de toxicidade associado aos AGVCL está relacionado com a sua adsorção às paredes celulares ou membranas celulares, interferindo com as funções de transporte e/ou funções de protecção da célula. Os AGVCL são inibitórios em baixas concentrações para bactérias gram-positivas, não apresentando efeitos inibitórios para as gram-negativas (Chen *et al.*, 2008). A sorção de AGVCL na biomassa resulta na flutuação da lama e na saída da biomassa pelo efluente. Hwu *et al.* (1998) verificou que as lamas floculentas e em suspensão, que possuem maior área de superfície específica, eram muito mais susceptíveis à entrada em inibição comparativamente à lama granular.

Alves *et al.* (2001) verificaram uma inibição de 50% das BMA e das BMH a uma concentração de oleato de 50 mg/l e 200 mg/l, respectivamente.

2.2.6.4-Metais pesados

Os metais pesados encontram-se usualmente em quantidades significativas nos efluentes industriais e no esgoto doméstico. Os principais metais pesados cuja presença no esgoto é

mais comum podendo tornar-se problemática a partir de determinadas concentrações são o crómio, ferro, cobalto, cobre, zinco, cádmio e níquel (Jin *et al.*, 1998). Uma característica particular dos metais pesados reside no facto de, ao contrário doutras substâncias tóxicas, estes não serem biodegradáveis, podendo acumular-se até atingirem concentrações potencialmente tóxicas. O efeito tóxico derivado da presença de metais pesados é atribuído à disrupção do funcionamento e estrutura das enzimas (Chen *et al.*, 2008).

O efeito de estimulação ou inibição dos microrganismos anaeróbios é determinado pela concentração total de metais, as formas químicas em que se encontram os metais, pH e potencial redox (Zayed e Winter, 2000). A solubilidade dos metais aumenta para valores de pH mais reduzidos (Lopes *et al.*, 2008). A toxicidade causada por metais pesados está mais correlacionada com a concentração iónica na forma livre do metal do que com a sua concentração total (Bhattacharya *et al.*, 1995).

No Quadro 2.5 é apresentada a revisão bibliográfica efectuada sobre as concentrações inibitórias de metais pesados no processo de DA.

Quadro 2.5 – Concentrações inibitórias de Cd, Cr, Cu, Ni, Zn, e Pb.

Operação/ tipo de lama	Metal pesado	% inibição	Concentração (mg/l)	Fonte de carbono	Referência
batch	Cd(formalivre)	8 (BM)	0,1	acetato	Bhattacharya <i>et al.</i> , 1995
batch	Cd(forma livre)	100 (BM)	0,13	acetato	Bhattacharya <i>et al.</i> , 1995
batch	Cd	50 (BM)	36	glucose	Altaş, 2009
UASB	Cd	50 (BM)	>550	amido	Fang e Hui, 1994
UASB	Cd	50 (H ₂)	3300	sucrose	Li e Fang, 2007
CSTR	Cd	50 (BM)	7,7	AGV	Lin, 1993
batch	Cr	50 (BM)	27	glucose	Altaş, 2009
UASB	Cr	50 (BM)	630	amido	Fang e Hui, 1994
UASB	Cr	50 (H ₂)	3000	sucrose	Li e Fang, 2007
CSTR	Cr	50 (BM)	14,7	AGV	Lin, 1993
batch	Cu	100 (BM)	20	acetato	Jin <i>et al.</i> , 1998
UASB	Cu	50 (BM)	158	amido	Fang e Hui, 1994
UASB	Cu	50 (H ₂)	30	sucrose	Li e Fang, 2007
CSTR	Cu	50 (BM)	12,5	AGV	Lin, 1993
batch	Ni	50 (BM)	35	glucose	Altaş, 2009
UASB	Ni	50 (BM)	118	amido	Fang e Hui, 1994
UASB	Ni	50 (H ₂)	1300	sucrose	Li e Fang, 2007
CSTR	Ni	50 (BM)	400	AGV	Lin, 1993
batch	Zn	100 (BM)	20	acetato	Bhattacharya <i>et al.</i> , 1995
batch	Zn	50 (BM)	7,5	glucose	Altaş, 2009
UASB	Zn	50 (BM)	97	amido	Fang e Hui, 1994
UASB	Zn	50 (H ₂)	1500	sucrose	Li e Fang, 2007
CSTR	Zn	50 (BM)	16	AGV	Lin, 1993
UASB	Pb	50 (H ₂)	>5000	sucrose	Li e Fang, 2007
CSTR	Pb	50 (BM)	67,2	AGV	Lin, 1993

Os valores obtidos nestes estudos revelam que, em média, a toxicidade dos metais pesados para as BM (expressa pela concentração responsável por 50% de inibição), varia do seguinte modo: Zn (40,2 mg/l) > Cu (63,2 mg/l) > Ni (184,3 mg/l) > Cd (197,9 mg/l) > Cr (223,9 mg/l).

De um modo geral as BF e BA são mais resistências à toxicidade causada por metais pesados comparativamente às BM (Zayed e Winter, 2000).

A quantidade de sólidos presentes no digestor é um factor que tem muita influência na toxicidade relacionada com metais pesados. Quanto maior o teor em sólidos menor a susceptibilidade do sistema entrar em inibição devido à concentração de metais pesados.

2.2.6.5-Metais alcalinos e alcalino-terrosos

A adição excessiva de sais ao digestor com o objectivo de controlar o valor de pH, pode resultar na inibição do processo anaeróbio. As concentrações inibitórias de metais alcalinos e alcalino-terrosos encontram-se apresentadas no quadro 2.6.

Quadro 2.6 – Concentração inibitória para alguns metais alcalinos e alcalino-terrosos

Catião	Aclimação	[] inibição moderada (mg/l)	[] inibição severa (mg/l)	Referência
Na ⁺	com	3000	16000	Feijoo <i>et al.</i> , 1995
Na ⁺	com	6000	-	Bashir e Matin, 2004b
Na ⁺	sem	3500-5500	8000	McCarty, 1964
K ⁺	com	8500	-	Bashir e Matin, 2004c
K ⁺	sem	2000	-	Bashir e Matin, 2004c
K ⁺	sem	2500-4500	12000	McCarty, 1964
Ca ²⁺	sem	875	1200	Van Langerak <i>et al.</i> , 1998
Ca ²⁺	sem	2500-4500	8000	McCarty, 1964
Mg ²⁺	sem	1000-1500	3000	McCarty, 1964

Os metais alcalinos e alcalino-terrosos são benéficos ao processo anaeróbio, estimulando as bactérias. No entanto, quando presentes em concentrações excessivas tornam-se inibitórios.

A concentração em nutrientes, o período de aclimação e a ocorrência de sinergismo e de antagonismo são os factores que influenciam a inibição provocada por iões (Feijoo *et al.*, 1995).

A utilização de magnésio, ou o efeito combinado dos iões cálcio e potássio, pode ser muito eficaz na redução da toxicidade provocada pelo sódio (Bashir e Matin, 2004a; Bashir e Matin, 2004b), enquanto o efeito combinado do cálcio e sódio pode ser eficaz na redução da toxicidade provocada pelo potássio (Bashir e Matin, 2004c).

2.3. Tipos de reactores anaeróbios

Os reactores anaeróbios convencionais podem operar em modo descontínuo, contínuo, ou semi-contínuo. No processo descontínuo, a matéria orgânica é introduzida na sua totalidade no interior do reactor, ficando retida durante um determinado período de tempo até ao final do processo de degradação. No processo contínuo a alimentação é introduzida de forma contínua enquanto na semi-contínua é introduzida de modo intermitente. A operação em modo contínuo e semi-contínuo são preferíveis, uma vez que permitem o crescimento constante dos microrganismos através do controlo do caudal de alimentação.

A escolha do tipo de reactor é determinada pelas características do resíduo, especialmente pelo conteúdo em partículas sólidas. O Quadro 2.7 evidencia as principais diferenças operacionais dos vários reactores utilizados no processo de DA.

Quadro 2.7– Condições operacionais típicas das várias configurações de digestores anaeróbios (Mara e Horan, 2003).

Tipo de reactor	Alimentação (kg CQO/m ³ .dia)	TRH (h)	Remoção CQO (%)
Reactor de mistura completa	1-5	240-360	60-80
Reactor anaeróbio de contacto	1-6	24-120	70-95
Reactor anaeróbio descontínuo sequencial	1-10	6-24	75-90
Reactor de filtro anaeróbio	2-15	10-85	80-95
Reactor de leito fluidizado	2-50	1-4	80-90
Reactor UASB	2-30	2-72	80-95
Reactor com anteparas	3-35	9-32	75-95
Digestão anaeróbia em 2 fases	5-30	20-150	70-85

Na Figura 2.6 encontram-se as principais configurações de digestores anaeróbios utilizados no tratamento de águas residuais.

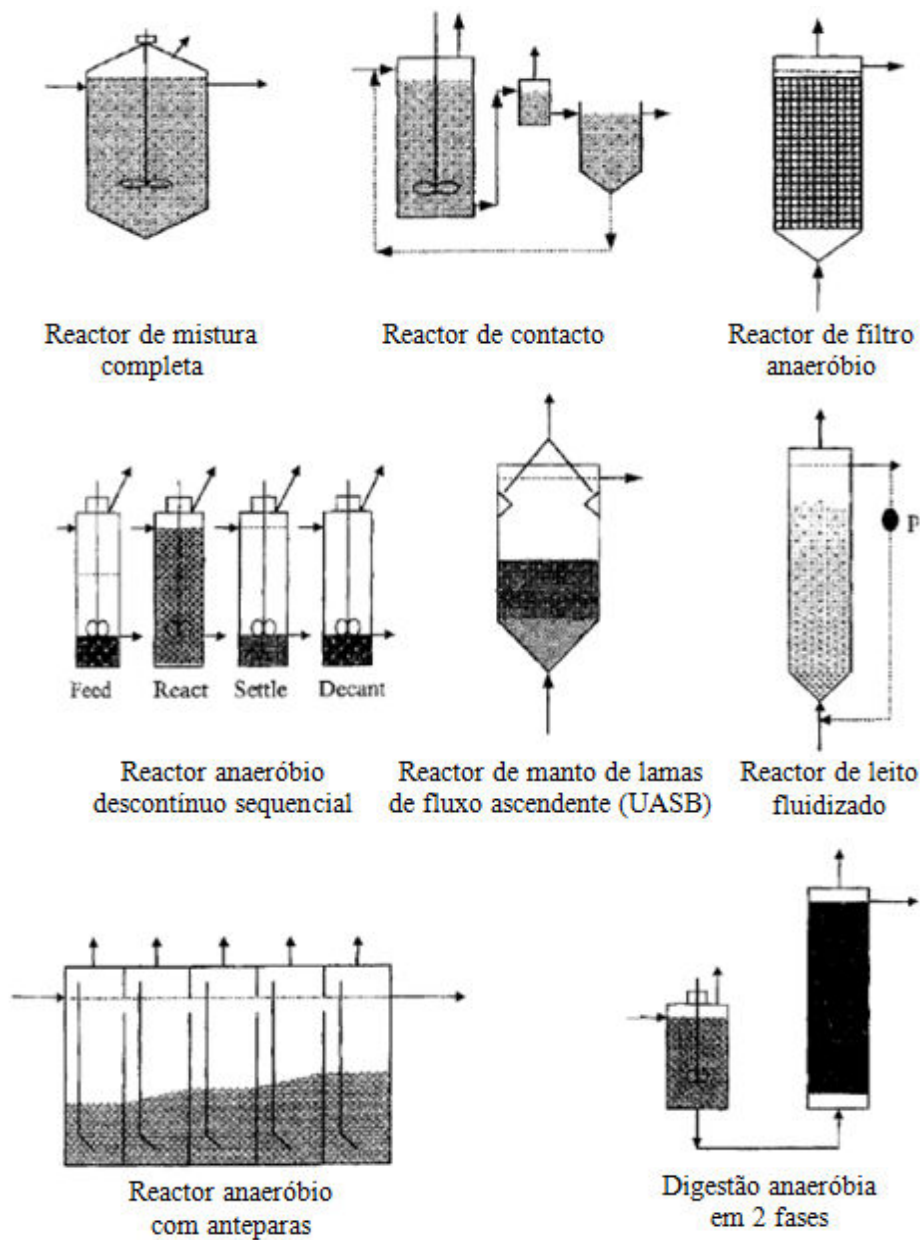


Figura 2.6– Configurações de reactores anaeróbios usadas no tratamento de águas residuais (Mara e Horan, 2003).

2.3.1- Reactor de mistura completa

Este tipo de digestores é agitado de modo a que o substrato esteja completamente homogeneizado no seu interior. A alimentação pode ser realizada de modo contínuo ou intermitente.

Nos reactores de mistura completa, a biomassa encontra-se suspensa no líquido em digestão e será removida em conjunto com o efluente, pelo que o TRS é igual ao TRH. Como tal, a sua operação está dependente do crescimento contínuo de nova biomassa de modo a substituir a que se perde pelo efluente. O crescimento das bactérias anaeróbias é bastante lento, particularmente algumas estirpes de BM que possuem um tempo de duplicação de 5 a 10 dias. Por este facto, o TRH deste tipo de digestores nunca deve ser inferior a 10 dias, de modo a assegurar um tratamento eficaz e um quantitativo populacional adequado no interior do digestor (Mara e Horan, 2003).

A utilização deste tipo de digestores requer volumes elevados para compensar o tempo necessário para o seu tratamento. Para além disso, a perda de biomassa durante a sua operação impossibilita a sua utilização para a maioria dos efluentes industriais. No entanto, as lamas domésticas, assim como efluentes com elevado teor de sólidos e de matéria orgânica, podem ser utilizadas com sucesso neste tipo de digestores, permitindo a reposição dos microrganismos no interior do digestor.

Para a digestão de lamas domésticas é efectuada muitas vezes a decantação do efluente de modo a proceder-se à reciclagem e recirculação da biomassa, tornando possível o funcionamento com TRH mais curtos (Pind *et al.*, 2003b).

2.3.2- Reactor de contacto

O princípio do reactor de contacto reside na aplicação de um segundo orgão onde a lama é decantada e recirculada de volta para o primeiro reactor, permitindo um maior período de contacto da biomassa com o substrato. Devido à recirculação da lama, neste tipo de digestores o TRS é superior ao TRH, permitindo uma maior eficiência no tratamento comparativamente ao digestor completamente agitado.

A agitação adequada destes digestores é essencial para que a transferência de massa entre a alimentação e a biomassa activa ocorra de modo eficaz.

A maior desvantagem da aplicação destes digestores resulta do facto da sua operacionalidade estar dependente do bom funcionamento do reactor de sedimentação, que por vezes está condicionado devido ao crescimento de bactérias anaeróbias filamentosas e produção de biogás que dificultam o processo de sedimentação (Mara e Horan, 2003).

2.3.3- Reactor anaeróbio descontínuo sequencial

Este tipo de digestor opera segundo um ciclo sequencial constituído por 4 fases: alimentação, reacção, sedimentação, e decantação. A alimentação e decantação processam-se em modo descontínuo, enquanto o crescimento se processa num sistema em suspensão. Todas estas fases ocorrem num único digestor. No entanto, uma parte significativa do tempo dispendido neste ciclo está associada à sedimentação da biomassa do efluente tratado, pelo que os requisitos de volume são superiores comparativamente aos reactores que operam em contínuo. Esta desvantagem é contrabalançada pela sua enorme simplicidade, não necessitando de uma fase subsequente de sedimentação nem de reciclagem da biomassa (Mara e Horan, 2003).

2.3.4- Reactor de filtro anaeróbio

O filtro anaeróbio é um processo de tratamento onde é utilizado um filme biológico fixo, no qual uma matriz fixa (meio de suporte), providencia uma superfície de aderência que suporta os microrganismos. As bactérias formam um filme biológico que é sustentado pela assimilação dos nutrientes e dos poluentes da água residual que circula em fluxo ascendente. Este filme desprende-se periodicamente, saindo com o efluente ou sedimentando no fundo do tanque.

Os filtros anaeróbios foram o primeiro sistema implementado que eliminou a necessidade de se proceder à separação de sólidos e reciclagem, possibilitando TRS bastante superiores ao TRH.

Nestes sistemas podem ser utilizados diversos tipos de materiais de suporte como plástico, carvão activado granular, areia, polímeros expandidos reticulares, granito e quartzo. Estes materiais possuem uma superfície específica muito superior comparativamente ao seu volume. Os reactores de filtro anaeróbio apresentam a vantagem de serem extremamente resistentes a choques de carga orgânica e outras perturbações operacionais, como pH e compostos inibitórios, tornando-o ideal tanto para o tratamento de águas residuais solúveis diluídas como para as solúveis de elevada carga orgânica que podem ser diluídas por reciclagem.

As limitações associadas à utilização dos filtros anaeróbios estão associadas à deterioração da estrutura do leito, derivado da acumulação progressiva de sólidos não biodegradáveis, tornando desadequada a sua utilização para o tratamento de efluentes com elevado teor de sólidos. De modo a solucionar este problema, os reactores podem ser operados em modo de

fluxo descendente, forçando a saída dos sólidos não biodegradáveis. Outra desvantagem reside no facto dos custos associados a esta tecnologia serem consideravelmente elevados (Mara e Horan, 2003).

2.3.5- Reactor de leito fluidizado/leito expandido

O reactor de leito fluidizado surgiu de uma tentativa de solucionar as dificuldades associadas à separação da biomassa em reactores de mistura completa e reactores de contacto. Para solucionar o problema pretendeu-se construir um reactor que acumulasse por aderência a maior quantidade de biomassa activa possível, permitindo de igual modo acumular os SS mais finos. Com o reactor de leito fluidizado atingiu-se uma maior actividade específica da biomassa por volume de reactor, maximizando a área superficial disponível para a aderência das bactérias e minimizando o volume ocupado pelo meio. O filtro contém partículas extremamente reduzidas (0,5 mm) e a operação é realizada em fluxo ascendente de modo a permitir a fluidização do meio. O reactor de leito expandido difere do leito fluidizado apenas na taxa do fluxo líquido e no nível de expansão do leito (10 a 20% para o leito expandido e 30 a 90% para o leito fluidizado). No reactor de leito fluidizado, a biomassa vai aderir à superfície de partículas de reduzidas dimensões (como antracite, leitos de plástico de densidade elevada, areia) que são mantidas em suspensão pelo fluxo ascendente. O efluente é reciclado de modo a diluir o resíduo afluente e a providenciar fluidez ao fluxo ascendente de modo a manter as partículas em suspensão. A elevada área superficial de suporte das partículas e a agitação que resulta do elevado fluxo ascendente permite o desenvolvimento de elevada concentração de biomassa e uma eficiente cinética associada ao substrato, respectivamente. O maior risco durante a operação do reactor de leito fluidizado/expandido está na perda de partículas de biomassa do interior do reactor derivado de alterações bruscas na densidade das partículas, caudal, ou produção de gás (Mara e Horan, 2003).

2.3.6- Reactor de manto de lamas de fluxo ascendente (UASB)

Os reactores UASB são actualmente a tecnologia utilizada com mais frequência para o tratamento de águas residuais domésticas e industriais (van Haandel e Lettinga, 1994).

Nos sistemas UASB, o resíduo líquido apresenta fluxo ascendente através de um manto espesso de lama granular anaeróbia, com um diâmetro de aproximadamente 0,5-2,5 mm. A lama granular contém concentrações elevadas de bactérias imobilizadas que apresentam propriedades que propiciam a colonização. Neste tipo de reactor, a biomassa encontra-se retida como um manto ou matriz granular. A formação dos grânulos anaeróbios é um processo complexo que pode ser desencadeado pela adsorção e adesão das bactérias a matéria inerte, precipitados inorgânicos e/ou ambos através de interações físico-químicas ou associações sintróficas (Yu *et al.*, 2001). Estas substâncias servem como precursores iniciais para o crescimento bacteriano posterior. O elevado potencial de sedimentação dos grânulos de lama permite uma retenção superior de biomassa no interior do reactor comparativamente aos outros sistemas de tratamento, possibilitando, consequentemente, que o sistema UASB atinja uma taxa de alimentação orgânica bastante elevada.

Este tipo de reactores possibilita que se atinjam concentrações elevadas de biomassa sem que sejam necessários materiais de suporte permitindo uma redução de custos significativa. O substrato entra no reactor pela parte inferior, onde entra em contacto com o leito de lamas sedimentadas. A parte superior do reactor possui um sistema de separação de fases (sólido, líquido, gás), existindo no interior do reactor uma zona específica separada para cada fase: uma zona de digestão, uma zona de sedimentação, e uma zona de separação gás/líquido.

A mistura do conteúdo do reactor é proporcionada pela produção de metano no interior do manto e pelo fluxo hidráulico (McInerney, 1999).

2.3.7- Reactor anaeróbio com anteparas

Este tipo de reactor consiste numa série de anteparas verticais alternadas por entre as quais ocorre o fluxo de água residual.

As principais vantagens associadas à utilização de reactores com anteparas são (Mara e Horan, 2003): a elevada estabilidade e fiabilidade devido à aderência dos sólidos no meio filtrante, acabando a biomassa por funcionar ela própria como um meio de suporte para a aderência dos microrganismos; a disposição das anteparas permitir reduzir a perda de biomassa pelo efluente, retendo um conteúdo elevado de sólidos; a configuração do reactor com anteparas permitir que este recupere rapidamente de choques hidráulicos e de carga orgânica; não requer equipamento extra para separação do gás e da lama; permitir operar como um sistema de tratamento anaeróbio em duas fases devido à sua configuração compartimentalizada, com

uma separação espacial da biomassa acidogénea e metanogénica; e reduzir a fracção de espaços mortos comparativamente à de outros sistemas; possibilitar o tratamento de praticamente todo o tipo de águas residuais orgânicas solúveis de baixa a elevada carga (Mara e Horan, 2003).

Este tipo de reactor é designado também por reactor de fluxo-pistão.

2.3.8- Digestão anaeróbia em duas fases

A aplicação do processo de digestão anaeróbia em duas fases implica a utilização de dois reactores separadamente, um para a fermentação e outro para a acetogénese/metanogénese. Estes reactores encontram-se dispostos em série, permitindo a optimização independente de cada fase do processo da digestão. Os benefícios estão associados ao facto dos microrganismos acidogénicos e metanogénicos possuírem diferentes requisitos nutricionais, características fisiológicas, pH óptimo e cinética de crescimento.

Com a separação de fases, as reacções de hidrólise, fermentação e acidificação ocorrem no primeiro reactor, enquanto as reacções de acetogénese e metanogénese ocorrem predominantemente no segundo reactor.

As principais vantagens da aplicação do processo de DA em duas fases são o maior controlo do processo; possibilidade de eliminação da biomassa acidogénea em excesso resultante do crescimento rápido e excessivo das BF, evitando deste modo a inibição da metanogénese derivada da acumulação de produtos ácidos; e composição superior em metano no biogás.

As principais desvantagens comparativamente aos outros sistemas de tratamento são a perturbação das relações sintróficas, a elevada acumulação de lamas no primeiro reactor (acidogéneo), e uma operação mais complexa (Mara e Horan, 2003).

3. Co-digestão de Substratos Orgânicos

A co-digestão apresenta-se como uma opção muito interessante para aumentar o rendimento do processo de DA de resíduos orgânicos biodegradáveis, consistindo na utilização de dois ou mais substratos num mesmo digestor (Mata-Alvarez *et al.*, 2000).

A co-digestão anaeróbia pode apresentar diversos benefícios comparativamente à digestão de substratos isoladamente, tais como: aumento do custo-benefício das unidades de tratamento derivada do tratamento de maior variedade de resíduos; maior eficiência de degradação do substrato derivado da ocorrência de efeitos sinérgicos e do facto do conteúdo em nutrientes e humidade estar mais próximo de valores óptimos; diluição de compostos inibitórios (como amónia e AGV); e aumento da produção de biogás (Mata-Alvarez *et al.*, 2000).

A co-digestão de resíduos em conjunto com lamas domésticas tem vindo a ser aplicadas frequentemente com sucesso em ETARs. O facto de muitas ETARs se encontrarem muitas vezes sub-exploradas, apresentando uma capacidade de tratamento muito superior comparativamente ao volume de lamas domésticas que aí são tratadas, tem servido de incentivo à aplicação da co-digestão (Weiland, 2000). Para além disso, a aplicação de co-digestão em ETARs apresenta a vantagem destas unidades estarem completamente apetrechadas com as infra-estruturas para a utilização do biogás produzido durante o processo (Weiland, 2000).

Nos próximos subcapítulos encontram-se caracterizados os substratos utilizados na parte prática deste trabalho; as lamas domésticas e o efluente da indústria da levedura do pão.

3.1- Caracterização de lamas domésticas

A água residual doméstica pode ser dividida em 2 categorias distintas que se distinguem pela sua origem: a **água “cinzenta”**, produzida nos banhos/duches, cozinha, lavagem de roupa; e a **água “negra”**, resultante da utilização dos sanitários (Hammes *et al.*, 1999). Estes 2 tipos de água residual são misturadas e transportadas ao longo do sistema de esgoto para a ETAR. Durante o percurso, esta água residual pode ainda ser diluída com águas de escorrência das chuvas e misturada com outro tipo de efluentes provenientes da actividade comercial e

industrial que também são descarregados no sistema de esgoto público. As componentes e composição do esgoto municipal encontram-se caracterizadas nos Quadros 3.1 e 3.2.

Quadro 3.1- Componentes principais do esgoto municipal (Koppe *et al.*, 1999).

Componentes do esgoto municipal	Produção diária (l/(pessoa.dia))
Água de cozinha e máquina de lavar	3-10
Urina e fezes	1-3
Água de sanitários	10-30
Água de limpezas	5-50
Água de duchas e banhos	5-500

Quadro 3.2 – Composição média da água residual doméstica (Hammes *et al.*, 1999).

	CQO _(total) (mg/l)	N _(Kjeldhal) (mg/l)	P _(total) (mg/l)
Água “cinzenta”	490-670 (580)	10-11	4-22
Água “negra”	1270-1700 (1480)	250-275	35-40
Mistura	720-980 (850)	78,5-86,4	12,8-25

Numa primeira fase do tratamento do esgoto, são realizadas operações preliminares que visam remover os sólidos grosseiros, areias e gorduras contidos no esgoto, sendo posteriormente realizado um **tratamento primário** de sedimentação efectuado em decantadores. A sedimentação permite uma remoção de sólidos suspensos (SS) superior a 90% (Di Berardino, 2001). Esta operação permite atingir um nível de depuração do esgoto de 30-35% em termos de CBO₅, reduzindo significativamente a carga poluente do esgoto. Após o tratamento primário, a matéria poluente remanescente é constituída essencialmente por colóides.

No **tratamento biológico secundário**, a matéria orgânica do efluente resultante do tratamento primário é degradada por intermédio de microrganismos aeróbios que são introduzidos em reactores biológicos sujeitos a arejamento. No efluente do reactor secundário, o esgoto contém uma quantidade elevada de biomassa que se desenvolve à custa da degradação de parte significativa do material orgânico e dos nutrientes presentes no esgoto. Estes

microrganismos vão sedimentar no fundo do reator sendo removidos por decantação. Após o tratamento secundário, as águas residuais tratadas apresentam um nível reduzido de poluição por matéria orgânica, podendo na maioria dos casos, serem descarregadas no ambiente receptor.

O processo completo de tratamento permite atingir, na sua globalidade, uma eficiência de tratamento superior a 90% em termos de CBO_5 , produzindo lamas primárias e lamas secundárias. Os tratamentos primário e secundário possibilitam, deste modo, uma redução significativa do volume de lamas comparativamente ao volume de esgoto inicial. No entanto estas lamas concentram ainda a carga orgânica poluente retirada ao esgoto, apresentando um estado elevado de putrefacção, viscosidade e mau cheiro (Di Berardino, 2001).

Nas ETARs são produzidas quantidades significativas de lamas (Quadro 3.3).

Quadro 3.3- Caracterização das lamas produzidas em ETARs (Di Berardino, 2001).

Tipo de lama	% de sólidos na lama	Resíduo seco (g/(hab.dia))	Volume (l/(hab.dia))
Lamas primárias não espessadas	0,2 - 2	55	1,1
Lamas primárias espessadas	4 - 10	-	0,2 - 0,5
Lamas de decantação secundária (Lamas activadas de média carga)	0,5 - 1,5	35	0,7 - 1,1
Lamas de decantação secundária (Leitos percoladores de alta carga)	0,5 - 1	20	0,4 - 0,7
Lamas mistas (primárias + lamas activadas)	3 - 5	86	1,8 - 2,4
Lamas mistas espessadas	5 - 10	86	0,9 - 1,2

As lamas secundárias são frequentemente enviadas para o decantador primário onde voltam a sedimentar, em conjunto com os sólidos suspensos (SS) do esgoto que entra no início da linha de tratamento, permitindo desta forma a formação de uma LM bastante concentrada. As lamas primárias correspondem a cerca de 2,5 - 3,5 % do volume de esgoto, às quais são adicionados 1,5 - 2,5 % de lamas secundárias. Deste modo, a quantidade de lamas mistas (LM) produzidas numa ETAR que necessitam de um processo de tratamento subsequente para serem posteriormente colocadas em destino final, correspondem a 4 a 7% do volume do

esgoto, consoante o sistema de tratamento e as condições de funcionamento da unidade (Di Berardino, 2001). Nos sistemas de grande dimensão é também frequente aumentar a concentração das lamas em tanques de espessamento ou por centrifugação, antes do seu envio para o digestor permitindo uma redução do seu volume.

As águas residuais municipais e as lamas de esgoto apresentam-se como um substrato com características adequadas para aplicação na área biotecnológica, uma vez que apresentam uma composição muito particular que contém os compostos necessários para o crescimento microbiano.

3.2- Caracterização de efluentes da indústria da levedura do pão

A levedura comercial é utilizada para a fermentação da massa do pão, assim como na produção de cerveja, álcool, vinho, e de diversos produtos lacticínios (Hui *et al.*, 2006). A estirpe *Saccharomyces cerevisiae* é a levedura comercial mais utilizada na fermentação de produtos alimentares.

Os efluentes da indústria da levedura contêm usualmente concentrações elevadas de sulfato (> 30g/l), CQO (> 4,5 g/l) e N-Kjeldhal Total (TKN - azoto *kjeldhal* total) (Krapivina *et al.*, 2007). Consequentemente, o tratamento deste tipo de efluentes implica a combinação dos ciclos do carbono, azoto e enxofre (Cervantes *et al.*, 2006). O efluente da levedura do pão apresenta uma cor escura e uma concentração elevada de compostos orgânicos não biodegradáveis (Blonskaja *et al.*, 2006), nomeadamente de um composto azotado solúvel designado por trimetilglicina (Zub *et al.*, 2008).

A composição do efluente da indústria da levedura resulta principalmente da utilização de melaço de beterraba e de cana-de-açúcar como matéria-prima principal do processo produtivo (Blonskaja *et al.*, 2006). O melaço é utilizado como fonte de carbono e de energia para o crescimento da levedura do pão, sendo um substrato barato, de fácil aquisição, e rico em diversas vitaminas e minerais (Hui *et al.*, 2006). O melaço apresenta geralmente a seguinte composição: 45-50% de açúcares residuais, 15-20% compostos orgânicos residuais, 10-15% cinza mineral e cerca de 20% de água (Blonskaja *et al.*, 2006). A maior parte dos compostos que não são açúcares no melaço, não são assimilados pela levedura, encontrando-se no efluente final do processo produtivo. Estes compostos representam o resíduo principal do processo de produção da levedura. Para além destes compostos, os químicos adicionados

durante a fermentação (anti-espumas, ácido propiónico, salmoura), os metabolitos da levedura e células residuais de levedura, encontram-se também no efluente do processo (Blonskaja *et al.*, 2006).

As elevadas concentrações de sulfato presente nos efluentes da indústria da levedura do pão, estão associadas à utilização de ácido sulfúrico para manutenção do funcionamento dos reactores em condições de pH ácido, e/ou da utilização de sulfato de amónio para a inibição de determinadas vias metabólicas na produção de compostos bioquímicos durante o processo produtivo da indústria (Jördening e Winter, 2005).

A crescente preocupação com a protecção das reservas de água potável tem resultado na aplicação de coimas cada vez mais elevadas à actividade industrial, numa tentativa de diminuir a descarga de efluentes com uma elevada carga poluente. Em diversos países, as autoridades locais têm vindo a exigir que a indústria seja responsável pelo tratamento adequado dos respectivos efluentes. A crescente exigência imposta à actividade industrial, impõe o desenvolvimento e implementação de processos de tratamento adequados e economicamente viáveis de modo a que estas exigências possam ser cumpridas.

A aplicação de um tratamento aos efluentes da indústria da levedura apresenta algumas contrariedades, como a sua operação ser do tipo sazonal, a variabilidade das características do efluente, devido ao processamento de diferentes produtos alimentares, e a sua deficiência em nutrientes (Trnovec e Britz, 1998).

A digestão anaeróbia apresenta-se como um método de tratamento eficaz e economicamente vantajoso para o tratamento dos efluentes da indústria da levedura, permitindo a remoção simultânea de parte significativa da matéria orgânica e do sulfato, embora possa apresentar problemas com a produção de sulfuretos.

3.3- Casos de estudo do tratamento de efluentes da indústria da levedura do pão

Zub *et al.*, (2008) efectuaram um trabalho com o objectivo de otimizar o tratamento dos efluentes resultantes da actividade de uma indústria de levedura, que até à altura da sua realização, tinha vindo a apresentar problemas de instabilidade associados ao método de tratamento biológico anaeróbio implementado. A instabilidade verificada estava associada à

desintegração dos grânulos de lama que acabavam por sair pelo efluente, pelo que a eficiência do tratamento não respeitava os requisitos exigidos pela legislação do país onde o estudo foi realizado.

Na tentativa de solucionar este problema foi montado um sistema anaeróbio/anóxico, a operar a 35°C, em que a fase anaeróbia era constituída por 2 reactores completamente agitados em paralelo, com recirculação de lamas do reactor anóxico para os 2 reactores anaeróbios. Este sistema funcionou durante 166 dias, com uma carga orgânica de (8,8 kgCQO/(m³.d)), tendo-se verificado os seguintes resultados nos reactores anaeróbios (Quadro 3.4):

Quadro 3.4- Resultados do funcionamento dos digestores anaeróbios (Zub *et al.*, 2008).

	Alimentação (m ³ /d)	CQO _t afluente (mgO ₂ /l)	CQO _t efluente (mgO ₂ /l)	Eficiência remoção CQO (%)	SO ₄ ²⁻ afluente (mg/l)	SO ₄ ²⁻ efluente (mg/l)	Eficiência remoção SO ₄ ²⁻ (%)	S ²⁻ efluente (mg/l)
Reactor1	72	17 530	11 380	35,1	2 900	400	86,2	360
Reactor2	65	17 530	4 850	72,3	2 900	0	100	390

A operação dos reactores anaeróbios em paralelo permitiu uma eficiência global de remoção de CQO e de SO₄²⁻ de 51,1% e 90,6%, respectivamente.

Krapivina *et al.*, (2007) avaliaram o tratamento de um efluente de uma indústria da levedura, utilizando um reactor descontínuo sequencial anaeróbio, com um volume líquido de 0,7 l, a operar a 35°C. A operação do reactor consistia em 3 fases: 1) fase de enchimento e decantação (o efluente sai pela parte superior do reactor, enquanto o afluente entra pela parte inferior); 2) fase de reacção com agitação contínua do interior do reactor fornecida através de recirculação de lamas; 3) fase de decantação. O efluente apresentava a seguinte composição: CQO_t: 14,4-25,7 g/l; SO₄²⁻: 3,5-5,3 g/l; N_t: 250-350 mg/l.

Durante a fase de arranque (primeiros 47 dias), o reactor foi sujeito a uma carga orgânica progressivamente superior, variando de 1,4 kg CQO/(m³.d) até 7,1 kg CQO/(m³.d), um TRH que variou de 10 até 2,5 dias, e uma concentração de sulfato no afluente que variou de 3100 a 5300 mg SO₄²⁻/l. No final da fase de arranque (dia 47), o digestor apresentou uma eficiência de remoção de sulfato de 100%, uma eficiência de remoção de CQO de 31% e uma produção de

biogás de 0,232 m³/kg CQO removido. No final da fase de arranque o digestor operava a uma razão de CQO/SO₄²⁻=5,63, não exibindo qualquer sinal de inibição devido a concentrações elevadas de sulfato. No entanto, o nível de tratamento atingido era bastante reduzido, com uma eficiência de degradação do CQO de apenas 31%.

As condições óptimas de operação do digestor verificaram-se no dia 88, para uma carga orgânica de 7,7 a 8,0 kg CQO/(m³.d), com uma eficiência de remoção do CQO de 84%, uma eficiência de remoção de SO₄²⁻ de 100%, uma produção de gás de 0,187 m³/kg CQO removido, e com um rácio CQO/SO₄²⁻=7,63. Este estudo contradiz alguns autores que põem em causa a eficiência do tratamento anaeróbio para valores de CQO/SO₄²⁻<10, devido à produção de sulfuretos (>220 mg/l) associada à redução do sulfato pelas BRS (O'Flaherty *et al.*, 1999). Neste estudo, a concentração de sulfuretos máxima no efluente foi de 41,4 mgS₂/l.

A remoção de sulfatos foi, em média, de 95% durante os 100 dias de operação do digestor. Durante a operação do digestor, a concentração de sulfato no efluente nunca excedeu os 40 mg/l. Para uma carga orgânica superior a 8,0 kg CQO/(m³.d) o processo entrou em inibição, verificando-se a inibição completa do processo a uma carga orgânica de 9,2 kg CQO(m³.d).

Durante o funcionamento estável do digestor, o biogás produzido apresentava a seguinte composição: 60% CH₄, 35% CO₂, e 2,7% H₂S.

Lo e Liao (1990) compararam a eficiência do tratamento anaeróbio de um efluente da levedura do pão num reactor de contacto e num reactor de filme fixo. O efluente utilizado apresentava a seguinte composição: CQO: 52,6-88,8 g/l; TKN: 1,6-2,1 g/l; SO₄²⁻: 4,6-6,3 g/l. O pH do afluyente foi ajustado para o valor 7. Neste estudo obtiveram-se os resultados que são apresentados no Quadro 3.5.

Quadro 3.5- Resultados do estudo de Lo e Liao (1990).

	Carga orgânica g CQO/(l.d)	Eficiência remoção CQO (%)	Produção de metano l _{CH4} /(l _{reactor} .d)	Composição em metano (%)
Reactor de contacto	6,48-7,04	37-53	0,55-0,60	48
Reactor de biofilme fixo	6,58-7,33	21-26	0,46	33-39

4. Objectivos

Este trabalho pretende estudar a viabilidade de implementação, na ETAR de Setúbal, de um processo de co-digestão anaeróbia de lamas resultantes do tratamento biológico dos efluentes urbanos com o efluente industrial da empresa MAURI Fermentos. O arranque de um processo de co-digestão anaeróbia constitui uma fase muito delicada e crucial para a sua evolução, uma vez que deve permitir a adaptação do sistema biológico ao substrato de modo a que este tenha a capacidade de degradar as cargas orgânicas elevadas. No caso concreto deste estudo, as dificuldades de adaptação devem-se à presença de sulfatos no efluente industrial que estimulam o crescimento das BRS, que são responsáveis pela redução do sulfato em sulfuretos, particularmente H_2S , que é tóxico para as bactérias podendo causar a paragem de todo o processo, para além de causar problemas de corrosão no equipamento.

Os objectivos globais deste trabalho são:

- Determinar a velocidade de degradação do substrato e definir o regime de carga a imprimir na fase de arranque;
- Avaliar a compatibilidade dos dois substratos;
- Avaliar a estabilidade do processo, com remoção simultânea da matéria orgânica e de sulfatos;
- Determinar a produção de biogás e sua composição;
- Determinar a concentração de compostos inibitórios responsáveis pela inibição do sistema;
- Determinar a proporção ideal de lamas e efluente industrial que proporciona o maior rendimento de biogás e ao mesmo tempo possibilita um grau de tratamento adequado.

A informação obtida constituirá, deste modo, uma base de apoio à decisão de implementação da co-digestão na ETAR de Setúbal, à escala real.

5. Descrição do trabalho experimental

O presente trabalho decorreu durante um período de 3 meses, desde o dia 27/07/2008 até 28/10/2008. Durante a sua realização, a principal preocupação prendeu-se em reproduzir, a uma escala laboratorial, as condições de operação na ETAR de Setúbal.

A ETAR de Setúbal possui 3 digestores, cada um com um volume de 1250 m^3 . No entanto, a ETAR encontra-se sub-explorada, uma vez que o caudal de lamas que chega à ETAR, para tratamento, justifica apenas o funcionamento de 1 dos 3 digestores disponíveis. Este trabalho pretendeu estudar, a uma escala laboratorial, a viabilidade de implementação da co-digestão de lamas domésticas com o efluente da empresa MAURI Fermentos, utilizando os 3 digestores disponíveis na ETAR de Setúbal em operação paralela. As condições para a implementação da co-digestão na ETAR de Setúbal são as seguintes: a) Caudal industrial: $260 \text{ m}^3/\text{dia}$; b) Caudal das lamas da ETAR: $120 \text{ m}^3/\text{dia}$; c) Volume dos 3 digestores: $3 \times 1250 = 3750 \text{ m}^3$; Regime de funcionamento: mesófilo (temperatura: 35°C).

Na fase de arranque do estudo, pretendeu-se simular, em laboratório, as condições de funcionamento do único digester de 1250 m^3 em funcionamento na ETAR de Setúbal, recebendo um caudal de $120 \text{ m}^3/\text{dia}$ de Lamas Mistas (LM), com um Tempo de Retenção Hidráulico (TRH) de 10,4 dias. Para este efeito, no INETI-DER, foi inoculado um digester anaeróbio, funcionando em fluxo intermitente e em mistura completa, com 3750 ml de lamas (3500 ml de lamas em digestão do digester da ETAR de Setúbal a funcionar em regime mesófilo + 250 ml de LM). Deste modo, o volume utilizado no digester laboratorial é 1 milhão de vezes inferior ao volume real que poderia ser utilizado na ETAR com os 3 digestores a funcionar em paralelo. Para um volume de 3,75 l e de modo a manter o TRH de 10,4 dias que se verifica na ETAR, o caudal inicial de alimentação do digester laboratorial foi de 360 ml/dia de LM. Este regime de alimentação foi mantido durante 10 dias, de modo a proporcionar o desenvolvimento e adaptação das bactérias.

Após este período iniciou-se o estudo de co-digestão, onde se pretendeu simular a utilização dos 3 digestores disponíveis na ETAR a funcionar em paralelo. Esta alteração operacional implicou o aumento do TRH para 25 dias, com um caudal de alimentação de $150 \text{ m}^3/\text{dia}$ (80% LM + 20% M), o que corresponde, na dimensão praticada em laboratório, a um regime de alimentação de 120 ml/dia LM + 30 ml/dia M. A este regime de alimentação foi adicionado, progressivamente, efluente industrial, em função do nível de adaptação do sistema biológico a

concentrações crescentes deste substrato. No Quadro 5.1 encontra-se caracterizado o regime de alimentação aplicado.

Quadro 5.1- Regime de alimentação aplicado no digestor

Período	Composição do afluente (LM e M) (% v/v)	Código da alimentação	Q (ml/dia)	TRH (d)
Dia 0 a 10	100% LM	LM	360	10,4
Dia 11 a 23	80% LM + 20% M	Lote 1	150	25,0
Dia 24 a 32	60% LM + 40% M	Lote 2	200	18,8
Dia 33 a 61	50% LM + 50% M	Lote 3	240	15,6
Dia 62 a 95	40% LM + 60% M	Lote 4	280	13,4

Devido à elevada concentração de sulfato no efluente industrial, era de prever que, ao aumentar-se a proporção deste substrato na alimentação do reactor, as BRS ganhassem vantagem competitiva sobre as BM. A adaptação dos microrganismos ao substrato foi avaliada ao longo do ensaio, através: 1) da capacidade em degradar as cargas orgânicas adicionadas (CQO e SV), 2) da capacidade de degradação dos AGV (níveis elevados de AGV, nomeadamente do acetato e propionato, podem indicar inibição do sistema biológico que está associado à sua degradação, e 3) da concentração de sulfuretos (concentrações elevadas podem provocar a inibição de vários tipos de bactérias presentes no processo de degradação).

Durante o período em que decorreu este trabalho, foram enviadas periodicamente, para o INETI-DER, amostras do efluente industrial da fábrica MAURI e de lamas mistas da ETAR de Setúbal, onde se procedeu à sua caracterização analítica.

No Quadro 5.2 encontram-se caracterizados os substratos utilizados durante o trabalho experimental.

Quadro 5.2- Composição média das lamas em digestão do fundo do digestor anaeróbio da ETAR de Setúbal, das LM e do efluente da MAURI.

Parâmetro	Lamas em Digestão	Lamas Mistas	Efluente MAURI
CQO (mg/l)	20 150	39 150	59 500
TOC (mg/l)	235,7	1 445	28 430
ST (g/l)	18,5	32,3	90,6
SV (g/l)	13	25,8	54,9
SST (g/l)	17,2	29,5	0,75
SSV (g/l)	12,9	24,3	0,57
pH	7,24	6,45	5,49
pREDOX (mV)	-354	-318	0,1
N _{total} (mg/l)	1484	1 876	2 940
N-NH ₄ ⁺ (mg/l)	546	56	22,4
Sulfatos (mg/l)	99	350	5 670
Ac. Acético (mg/l)	129	206	132
Ac. Propiónico (mg/l)	4	107	72
Ac. Iso Butírico (mg/l)	8	6	179
Ac. Butírico (mg/l)	-	16	21
Ac. Iso Valérico (mg/l)	-	22	53
AGV _{total} (mg/l)	141	357	457

Estas amostras foram mantidas a 4°C numa câmara frigorífica.

Na Figura 5.1 é apresentado um esquema do sistema experimental utilizado, e na Figura 5.2 uma fotografia do mesmo.

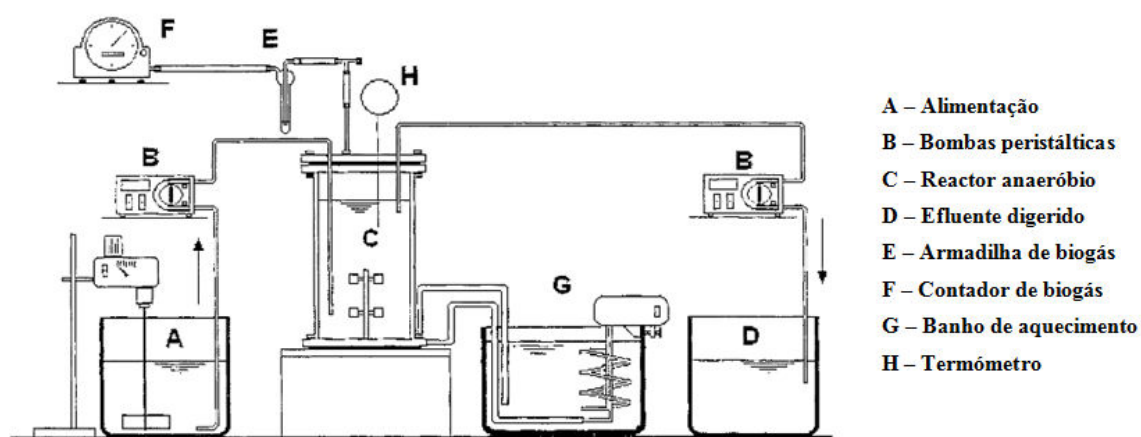


Figura 5.1- Esquema do sistema experimental instalado.



Figura 5.2- Fotografia do sistema experimental instalado

Previamente à inoculação, o digestor foi purgado com N_2 de modo a retirar o oxigénio dissolvido, criando condições de ausência de oxigénio.

O digestor foi aquecido e mantido a 35°C por intermédio de circulação de um banho de água termostatzado. O controlo da temperatura foi efectuado com auxílio de um termómetro.

A agitação do digestor ocorreu de modo contínuo, com uma intensidade que variou de 100 a 250 rpm ao longo do período experimental, consoante o nível de formação de espuma no digestor. A agitação foi interrompida alguns minutos antes e durante as operações de alimentação do digestor. Este procedimento teve como objectivo provocar a sedimentação das bactérias, no fundo do digestor, diminuindo a probabilidade destas saírem pelo efluente durante o período de alimentação.

Durante as operações de alimentação do digestor, o substrato era removido da câmara frigorífica a 4°C , sendo introduzido numa garrafa de plástico e mergulhado no banho de água de modo a atingir uma temperatura a rondar os 35°C (temperatura do líquido em digestão).

Este passo permitiu evitar a ocorrência de choques térmicos durante o contacto da água residual afluyente com a suspensão bacteriana contida no digestor, o que poderia afectar a actividade das bactérias.

O regime de alimentação aplicado consistiu na introdução da alimentação e remoção simultânea do líquido digerido na mesma proporção, sendo esta operação efectuada 2 vezes por dia. As operações de alimentação foram efectuadas com auxílio de duas bombas peristálticas. A manutenção do mesmo caudal no afluyente e no efluente foi assegurado através da manutenção constante do nível do líquido na armadilha de biogás. A subida do nível do líquido nesta armadilha indicava uma perda de pressão da fase gasosa no digestor, que se devia ao facto do caudal do efluente ser superior ao do afluyente. A descida do nível do líquido indicava o inverso. Consequentemente, a manutenção de um caudal idêntico entre as duas bombas podia ser avaliado pela manutenção do nível do líquido na armadilha de biogás.

Como se pode verificar no esquema da Figura 5.1, a extremidade do tubo, por onde a alimentação foi introduzida no reactor, foi colocada a uma maior profundidade do que a que se encontrava o tubo do efluente. Esta configuração permitiu que o substrato introduzido no digestor, pelo tubo do afluyente, não fosse removido de seguida pelo tubo do efluente, devido à distância significativa entre os dois tubos.

O volume de alimentação aplicado no digestor foi calculado tendo em conta a previsão do número de horas que se seguiriam até à próxima operação de alimentação e a manutenção do TRH estipulado. Deste modo, os períodos de tempo entre as operações de alimentação deveriam ser suficientes para garantir os TRH desejados.

Amostras colhidas no efluente do reactor foram guardadas a 4°C numa câmara frigorífica.

Durante este trabalho foram realizadas análises aos parâmetros indicados no Quadro 5.3 com a frequência que nele também se encontra indicada.

Quadro 5.3- Parâmetros de monitorização e periodicidade das análises efectuadas.

Frequência de análises	CQO	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	TKN	N-NH ₄ ⁺	ST SV	SST SSV	pH	Pot. redox	AGV	Biogás
Análises às amostras de LM e M	1x/l	1x/l	1x/l	1x/l	1x/l	1x/l	1x/l	1x/l	1x/l	1x/l	-
Análises ao afluente	1x/l	1x/l	1x/l	1x/l	1x/l	1x/l	1x/l	1x/d	1x/d	1x/l	-
Análises ao efluente	2x/s	1x/s	1x/s	1x/s	1x/s	2x/s	2x/s	1x/d	1x/d	2x/s	-
Análises ao biogás	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2x/s

1x/l = 1 vez por lote 1x/d = 1 vez por dia 1x/s = 1 vez por semana

A produção de gás foi contabilizada duas vezes por dia procedendo-se à sua leitura através do contador instalado para o efeito. Para além destes parâmetros ainda se procedeu à leitura da temperatura do líquido em digestão no reactor duas vezes por dia.

As análises ao biogás pretenderam avaliar a sua composição em metano, dióxido de carbono, oxigénio e ácido sulfídrico. Foram colhidas amostras de gás para análise duas vezes por semana. As amostras de biogás foram recolhidas num ponto específico da tubagem localizado entre o tubo de saída do biogás e o contador.

6. Material e Métodos

Durante o período em que decorreu este trabalho, as análises efectuadas aos parâmetros de monitorização (carência química de oxigénio (CQO), fosfatos (PO_4^{3-}), sulfatos (SO_4^{2-}), azoto *keijeldhal* total (N_{total}), azoto amoniacal (N-NH_4^+), sólidos totais (ST), sólidos voláteis (SV), sólidos suspensos totais (SST) e sólidos suspensos voláteis (SSV)), foram realizadas segundo os métodos de uso corrente utilizados no laboratório do INETI-DER, os quais seguem o manual “*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*” (1998).

O pH e o potencial redox foram determinados por eléctrodo selectivo.

6.1- Carência química de oxigénio (CQO)

O parâmetro CQO foi determinado através da medição da quantidade de agente químico oxidante que não sofre redução pela matéria orgânica presente na amostra.

Nas análises efectuadas ao CQO neste trabalho, a matéria orgânica e inorgânica oxidável presente nas amostras foram digeridas à temperatura de 150°C durante duas horas, sendo oxidadas por um excesso de dicromato de potássio em meio ácido, na presença de sulfato de prata (catalisador da oxidação) e de sulfato de mercúrio (agente complexante dos cloretos). O excesso de dicromato foi determinado por titulação com uma solução de sulfato de ferro e amónio de título conhecido. A matéria oxidável foi calculada em termos de oxigénio equivalente.

Para a sua determinação foram utilizados os reagentes água destilada, sulfato de mercúrio em cristais, ácido sulfúrico concentrado (95-97%), solução de dicromato de potássio 0,25 N, ácido sulfúrico no qual se dissolveu sulfato de prata em cristais ($\mu = 1,84 \text{ g/ml}$) à razão de 6,6 g/l, reagente sulfato de ferro e amónia (0,25 N) e solução de ferroína (constituída por 1,10-fenantrolina e sulfato de ferro em água).

Para a digestão do CQO foi utilizada uma unidade Selecta Bloc Digest 20.

O CQO da amostra foi calculado pela seguinte expressão:

$$CQO(mg/l) = \frac{8000 \times (V_0 - V_1) \times T}{V} \times D$$

sendo:

V_1 = volume, em ml, da solução de sulfato de ferro e de amónio utilizado para a determinação;

V_0 = volume, em ml, da solução de sulfato de ferro e de amónio utilizado para o ensaio em branco;

T = título, expresso em normalidade, da solução de sulfato de ferro e de amónio;

V = volume da amostra, em ml;

D = diluição efectuada

6.2- Teor em sólidos

6.2.1- Determinação de sólidos totais (ST) e de sólidos voláteis (SV)

Os sólidos totais (ST) indicam a quantidade total de matéria mineral e orgânica presente.

A determinação do teor em ST foi efectuada através de secagem em estufa das amostras de resíduo à temperatura de 105°C. O resíduo da secagem foi pesado permitindo o cálculo do teor em ST. Para a determinação dos SV, o resíduo após secagem foi levado a uma mufla, a 550°C, o tempo necessário para atingir peso constante, calculando-se o seu teor após arrefecimento até temperatura ambiente em exsicador, seguido de pesagem.

O equipamento utilizado para a determinação do teor em ST e SV foram cadinhos de porcelana, balança analítica, estufa regulável para 105°C e mufla regulável para 550°C.

6.2.2- Teor em sólidos suspensos totais (SST) e de sólidos suspensos voláteis (SSV)

Os sólidos suspensos totais (SST) indicam a quantidade de partículas que pelo seu tamanho se mantêm em suspensão na amostra, o que não inclui a matéria dissolvida e pequenos colóides. Os principais factores que afectam a separação entre sólidos suspensos e dissolvidos estão

relacionados com as características dos filtros, nomeadamente: porosidade, área, espessura e natureza física. O tamanho das partículas e a quantidade de material depositado afectam de igual modo a separação. Para a determinação dos SST, uma quantidade de amostra foi forçada sob vácuo à passagem por um filtro e seguidamente foi sujeita a secagem em estufa, à temperatura de 105°C. O resíduo da secagem é pesado, calculando-se seguidamente o teor em SST.

Para a determinação do teor em sólidos suspensos voláteis (SSV), o resíduo após secagem na estufa, é introduzido na mufla a uma temperatura de 550°C, o tempo necessário para atingir peso constante, calculando-se o teor de SSV após arrefecimento até temperatura ambiente em exsicador e pesagem.

O equipamento utilizado para as determinações de SST e SSV foram filtros de fibra de vidro (Whatman 1,6 µm), balança (que permitiu a pesagem do filtro com a aproximação de 0,1 mg), estufa regulável para 105°C e mufla regulável para 550°C.

6.3- Determinação de diferentes fracções de azoto

O azoto surge nas águas e efluentes industriais sobretudo na forma de nitratos, nitritos, amónia e azoto orgânico. Todos estes compostos, assim como o N₂, podem sofrer conversão de umas formas para as outras através de reacções bioquímicas. O azoto orgânico e o azoto amoniacal podem ser determinados conjuntamente, sendo o resultado denominado de azoto *kjeldhal*. O azoto orgânico inclui grande parte das principais biomoléculas, como proteínas, ácidos nucleicos e ureia. O azoto orgânico pode ser calculado pela diferença entre o azoto *kjeldhal* e o azoto amoniacal.

6.3.1- Azoto Kjeldhal total (TKN)

Para a determinação do azoto Kjeldhal Total (TKN), procedeu-se à digestão do azoto amino contido na amostra, sendo convertido em sulfato de amónio na presença de ácido sulfúrico, sulfato de potássio e sulfato de mercúrio (catalisador). Depois do complexo de mercúrio e amónio ter sido decomposto pelo tiosulfato de sódio durante a digestão, a amónia é destilada em meio alcalino e absorvida em ácido bórico. A amónia foi determinada por titulação com ácido sulfúrico diluído (0,1 N).

Para a determinação do Azoto *Kejeldhal* Total (TKN) foram utilizados os seguintes reagentes: reagente de digestão (constituído por sulfato de potássio, água destilada isenta de amónia, ácido sulfúrico concentrado, óxido vermelho de mercúrio e ácido sulfúrico 6N), solução indicadora de fenolftaleína, reagente de hidróxido de sódio-tiosulfato de sódio, solução mista de indicador (constituída por vermelho de metilo, álcool etílico a 95% e azul de metileno), ácido bórico (agente absorvente de amónio) com solução mista de indicadores a uma concentração de 20 g/l e padrão de ácido sulfúrico titulante diluído (0,1 N).

Para a digestão do azoto utilizou-se uma unidade Büchi K-424 e para o processo de destilação utilizou-se uma unidade Büchi K-315.

O azoto orgânico foi calculado pela seguinte expressão:

$$N_{\text{orgânico}} (\text{mg/l}) = \frac{D - E}{V_{\text{amostra}}} \times 1400$$

sendo:

D = Volume de H₂SO₄ gasto na titulação da amostra, em ml;

E = Volume de H₂SO₄ gastos na titulação do branco, em ml;

V = volume de amostra utilizado, em ml.

6.3.2- Azoto amoniacal (NH₄⁺)

O método utilizado em laboratório para a determinação da concentração de azoto amoniacal foi o da destilação seguida de titulação.

Nas análises efectuadas ao azoto amoniacal, as amostras foram tamponizadas a pH=9,5 com tampão de borato para diminuir a hidrólise dos cianetos e de compostos orgânicos de azoto, tendo sido depois destilada para uma solução de ácido bórico. Para este efeito foi utilizada uma unidade de destilação Büchi 315. No destilado, a amónia foi determinada por titulação com solução de ácido sulfúrico.

Os reagentes utilizados para a determinação da concentração de azoto amoniacal foram água isenta de amónia, solução tampão de borato (constituída por hidróxido de sódio 0,1N e

solução de tetraborato de sódio), hidróxido de sódio 6 N, agente de neutralização (hidróxido de sódio 1 N), solução absorvente (ácido bórico) e ácido sulfúrico 0,1 N.

A concentração de azoto amoniacal foi calculada através da seguinte expressão:

$$\text{NH}_4^+ (\text{mg/l}) = \frac{A - B}{V} \times 1400$$

sendo:

A = volume de H_2SO_4 gasto na titulação da amostra, em ml;

B = volume de H_2SO_4 gasto na titulação do branco, em ml;

V = volume de amostra.

6.4- Determinação do fósforo total

O teor em fósforo total da amostra inclui a totalidade dos ortofosfatos e fosfatos condensados, solúveis e insolúveis, e espécies orgânicas e inorgânicas. Para libertar o fósforo de eventuais combinações com a matéria orgânica, procedeu-se à digestão das amostras com ácido perclórico. Após a digestão, o ortofosfato libertado foi determinado pelo método colorimétrico. Numa solução diluída de ortofosfato, o molibdato de amónio reage em meio ácido dando origem ao ácido molibdofosfórico. Na presença de vanádio forma-se o ácido vanadomolibdofosfórico de cor amarela. A intensidade de cor é proporcional à concentração de fosfato na solução.

Para as determinações colorimétricas de fósforo utilizou-se um espectrofotómetro Hitachi U-2000.

Os reagentes utilizados para a determinação do fósforo total foram ácido sulfúrico concentrado, ácido nítrico concentrado, ácido perclórico 70%, solução indicadora de fenolftaleína, hidróxido de sódio 1 N e reagente vanadato-molibdato.

Para a determinação das concentrações de fosfatos foi preparado um gráfico de calibração que se encontra em anexo.

A concentração de fosfatos foi calculada através da seguinte expressão:

$$[PO_4^{3-}]_{amostra} \text{ (mg/l)} = \frac{\frac{[PO_4^{3-}]_{leitura} \times 0,05}{V_{digerido}} \times 0,1}{\frac{V_{amostra}}{1000}}$$

Os valores de $[PO_4^{3-}]_{leitura}$ foram calculados através das equações que se encontram em anexo, tendo em conta os valores de absorvência obtidos para cada comprimento de onda (400, 420, 450 e 470 nm). Só foram considerados válidos os valores de absorvência que se encontravam dentro da curva de calibração respectiva. O valor de $[PO_4^{3-}]_{leitura}$ utilizado na expressão acima equivale à média dos valores de $[PO_4^{3-}]_{leitura}$ dos comprimentos de onda cujos valores de absorvência foram considerados válidos.

6.5- Determinação de sulfatos

Para a determinação dos sulfatos, as amostras recolhidas no efluente do reactor foram sujeitas a um ataque de mistura de ácido clorídrico 70% e ácido nítrico 65%. Numa parte da solução proveniente do ataque ácido, os sulfatos foram precipitados sob a forma de sulfato de bário, sendo posteriormente determinado gravimetricamente.

Os reagentes utilizados para a determinação dos sulfatos foram água destilada, ácido clorídrico concentrado (37%), ácido nítrico (65%), ácido clorídrico diluído em água (1/4) e cloreto de bário (2%).

A concentração de sulfatos foi determinada a partir da seguinte expressão:

$$\text{Sulfato (g/l)} = \frac{(P_2 - P_1) \times 0,4115 \times 5 \times 1000}{V}$$

sendo:

P_2 = massa cadinho mais cristais, em g;

P_1 = massa do cadinho, em g;

V = volume da amostra, em ml.

6.6- Determinação de AGV

Os AGV analisados foram o acetato, o propionato, o butirato, o valerato, o iso-butirato e o iso-valerato. Para a análise aos AGV, as amostras foram previamente centrifugadas a 12000 r.p.m. (Eppendorf Centrifuge 5415D), durante 10 minutos, de modo a obter-se um volume de sobrenadante necessário para a análise. As concentrações de AGV foram determinadas por cromatografia em fase gasosa, tendo-se utilizado um cromatógrafo Hewlett Packard (modelo 5890) equipado com um detector de ionização de chama (FID) nas condições apresentadas no Quadro 7.1.

Quadro 6.1- Caracterização das análises aos AGV.

	AGV
Tipo de cromatografia	Gasosa
Método	Padrão interno (ácido píválico)
Gases	Hélio
Coluna	4% CW-20 M 1% Trimesic acid, 80/120 Carbopack BDA 2m × 1/8 IN SP 30000189
Temperaturas	Coluna a 170°C Injector a 175°C Detector a 250°C
Volume da amostra	Aproximadamente 0,5 µL
Integrador	Shimadzu modelo C-R5A

6.7- Determinação da composição do biogás

As amostras de gás foram analisadas num Cromatógrafo de fase gasosa (Varian 3800), equipado com um Detector de Condutividade Térmica (TCD). As condições experimentais de utilização do cromatógrafo são apresentadas no Quadro 7.2.

Quadro 6.2- Caracterização das análises à composição do biogás.

	Composição do biogás
Tipo de cromatografia	Gasosa
Método	Padrão externo
Gases	Azoto
Coluna	Porapack S, de 3m × 1/8 Polegada 80-100 mesh
Temperaturas	Coluna a 50°C Injector a 60°C Detector a 150°C
Volume da amostra	0,5 ml
Integrador	Shimadzu modelo C-R5A

7. Resultados e discussão

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos durante o período experimental, ao longo do qual decorreu este trabalho. Nas figuras apresentadas encontram-se demarcados, com linhas verticais, os períodos em que o regime de alimentação foi alterado, de modo a facilitar a interpretação da informação.

O potencial redox constitui um dos parâmetros com a resposta mais rápida face a uma situação de instabilidade no digestor, como acumulação de ácidos ou a variação do pH. Para além disso, é um indicador da manutenção das condições de anaerobiose indispensáveis à actividade das bactérias envolvidas em todo o processo de DA. A monitorização deste parâmetro foi efectuada diariamente, durante o período experimental, devendo apresentar valores inferiores a -300 mV, que indicam a existência de ambiente suficientemente redutor para o bom funcionamento das BM.

Pela análise da Figura 7.1 podemos verificar, apesar dos valores de potencial redox terem sido elevados e de terem apresentado uma elevada variabilidade no efluente do digestor, o efluente apresentou um valor de potencial redox estável, a rondar os -400 mV, em especial a partir do 15º dia de ensaio. Esta gama de valores de potencial redox é indicadora da existência de BRS no líquido em digestão, que se mantiveram activas em conjunto com as BM. Pode-se assim concluir que o ambiente no interior do digestor foi fortemente redutor ao longo de todo o período experimental.

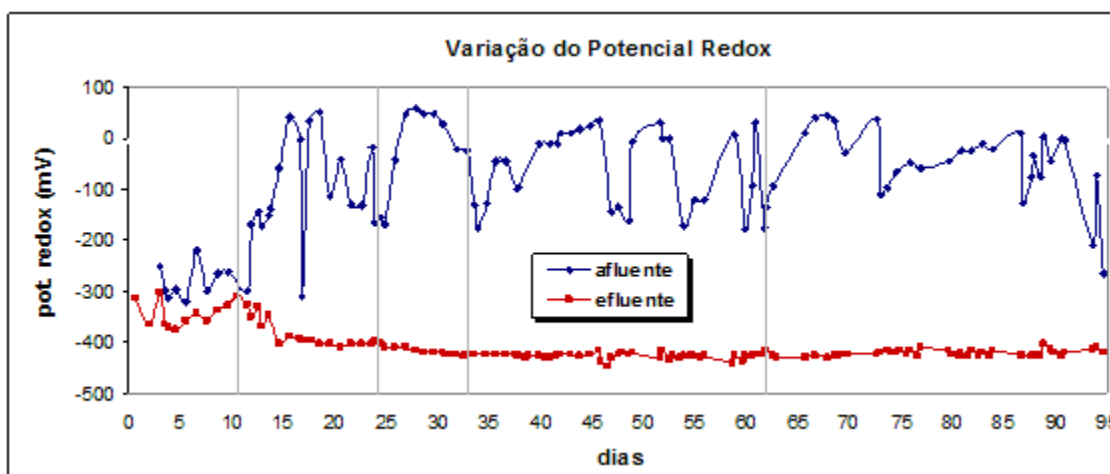


Figura 7.1- Variação do potencial redox no afluente e no efluente do digestor anaeróbico, ao longo de todo o ensaio.

O valor de pH da fase líquida de um sistema anaeróbio é determinado pelo grau de dissociação de diversos compostos, tais como o amoníaco, o ácido sulfídrico, o ácido ortofosfórico, o acetato, o CO₂, o propionato e o butirato (Vavilin *et al.*, 1995). A utilização do pH como indicador da estabilidade do funcionamento do processo de DA baseia-se no facto de que uma descida do valor de pH está associada, usualmente, à acumulação de AGV. No entanto, não é recomendada a utilização deste parâmetro como indicador isolado da acumulação de ácidos durante o processo de DA de efluentes com uma elevada capacidade tampão, uma vez que estes possuem uma elevada resistência a alterações no valor do pH, para além de que, quando se verifica a alteração do seu valor, já o processo se encontra em estado de desequilíbrio acentuado (Mechichi e Sayadi, 2005; Nielson, 2006).

Pela análise da Figura 7.2 podemos verificar que o pH do afluente apresentou valores relativamente estáveis ao longo de todo o período experimental, a rondar o valor de 6,4, enquanto o efluente apresentou um aumento gradual do pH até ao 43º dia de ensaio, de um valor próximo de 7 até valores próximos de 8. Este aumento de pH pode ter sido causado pela produção de compostos com carácter alcalino, resultantes da decomposição das proteínas. A partir do 62º dia, com a alteração do regime de alimentação do lote 3 para o lote 4, verificou-se uma ligeira diminuição do pH, provavelmente devido à acumulação de AGV no digestor.

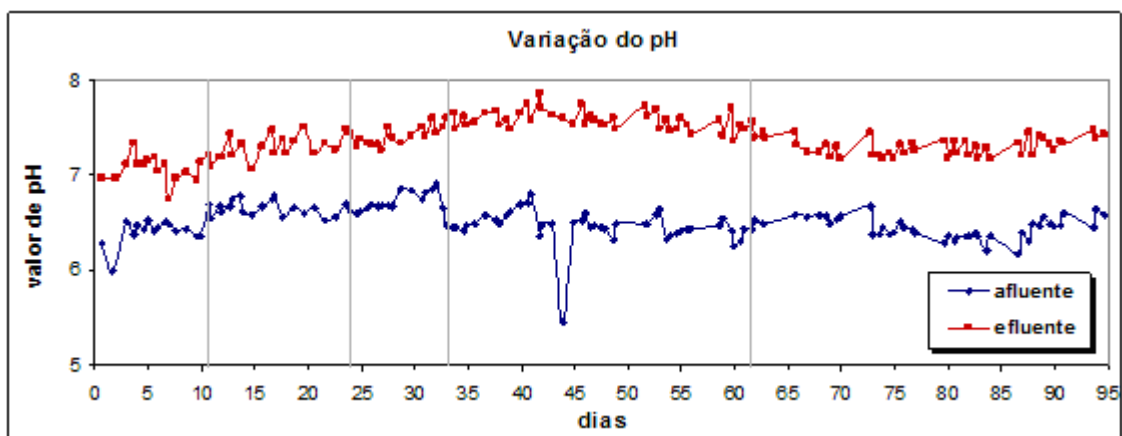


Figura 7.2- Variação do pH.

A ocorrência de variações graduais e pouco acentuadas do valor de pH ao longo de todo o período experimental, particularmente nos períodos de alteração do regime de alimentação, permitem concluir a existência de alcalinidade elevada no digestor, com condições favoráveis para o bom funcionamento do processo de DA.

Para o processo anaeróbio decorrer de modo estável e eficiente é crucial a manutenção de uma temperatura constante no digestor. A ocorrência de choques de temperatura pode

afectar de modo significativo o desempenho das bactérias, nomeadamente a sua taxa de sobrevivência, para além de influenciar o seu crescimento associado à variação da sua actividade metabólica. Deste modo, a alteração da temperatura pode provocar um desequilíbrio na população microbiológica, que pode resultar na paragem do processo de DA. Através da análise da Figura 7.3 podemos verificar que a temperatura se manteve estável durante praticamente todo o período experimental, com valores compreendidos entre 34 e 36°C. Apenas nos dias 27º, 59º e nos últimos três dias do ensaio ocorreram diminuições de temperatura, para 30,5°C, 32°C e 28°C, respectivamente. O tempo de duração destas oscilações foi muito curto, pelo que o processo não deve ter sido afectado de modo significativo devido à sua ocorrência.

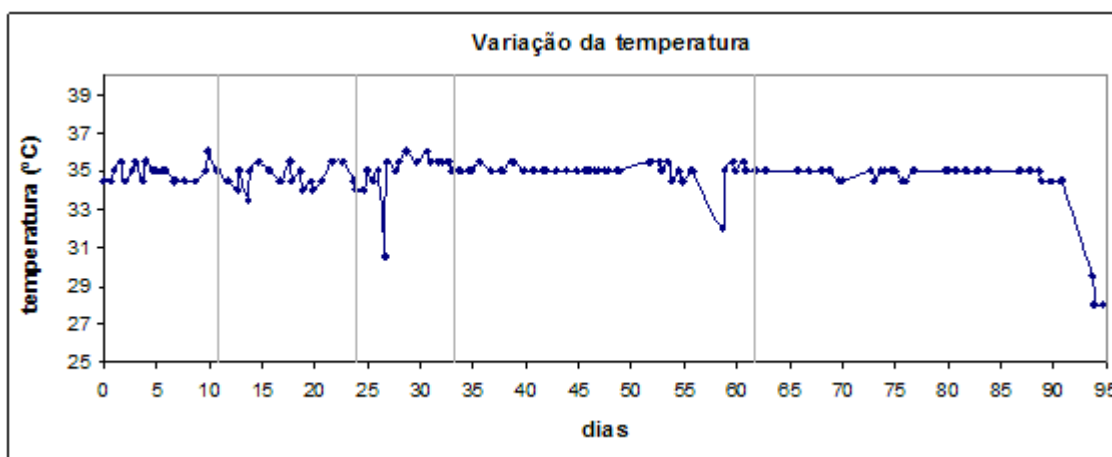


Figura 7.3- Variação da temperatura no digestor anaeróbio, ao longo de todo o ensaio.

A carga orgânica fornecida durante a alimentação do digestor depende da composição do resíduo no afluente, desempenhando um papel determinante na cinética das reacções durante o processo de DA (Igoni, 2008), sendo previsível uma recuperação lenta do processo em consequência da aplicação de uma sobrecarga orgânica, podendo resultar na acumulação de AGV e na redução do pH.

Na Figura 7.4 encontra-se evidenciado o TRH e a carga orgânica aplicados. As fortes oscilações que se verificam em ambos os parâmetros a partir do 49º dia deveram-se ao facto de, a partir desse dia, ter-se deixado de alimentar o digestor aos fins-de-semana, o que provocou uma variação nos valores do TRH e da carga orgânica volúmica.

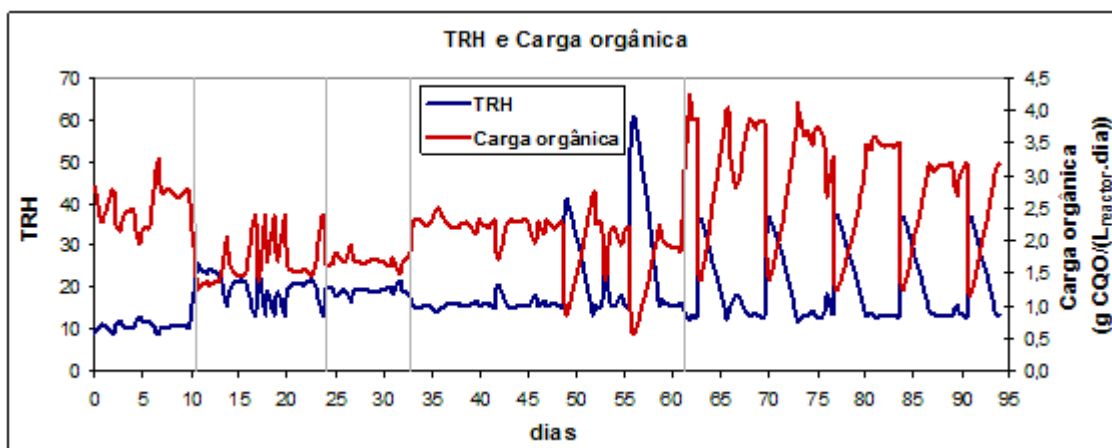


Figura 7.4- TRH e carga orgânica aplicados no digestor anaeróbio, ao longo de todo o ensaio.

Relativamente à carga orgânica volúmica aplicada (Figura 7.4), e avaliando a acumulação de AGV (Figura 7.5) e composição do biogás (Figura 7.6), podemos concluir que a alteração de carga no 62º dia de ensaio, de 1,8 para 4,2 $\text{gCQO}/(\text{L}_{\text{reator}} \cdot \text{dia})$, causou uma inibição significativa no processo.

A concentração de AGV é o parâmetro vulgarmente utilizado para a indicação da ocorrência de sobrecargas orgânicas e a inibição da actividade dos microrganismos responsáveis pela degradação dos produtos intermediários ácidos.

Pela análise da Figura 7.5 pode-se verificar que a concentração de AGV no digestor manteve-se a níveis bastante reduzidos durante o período de arranque, assim como nos períodos de alimentação com o lote 1 e lote 2 (até ao 33º dia). A partir do 33º dia, durante o período de alimentação com o lote 3, começou-se a verificar alguma acumulação de AGV, chegando a sua concentração total no efluente a atingir os 3000 mg/l. No 62º dia de ensaio, a concentração de AGV diminuiu, regressando aos níveis registados no início do estudo. Contudo, neste mesmo dia o digestor foi sujeito a uma sobrecarga orgânica acentuada com a alteração do regime de alimentação (lote 4), provocando um aumento acentuado da concentração de AGV no efluente do digestor, nos dias subsequentes. No 82º dia de ensaio a sua concentração total atingiu o valor de 10100 mg/l.

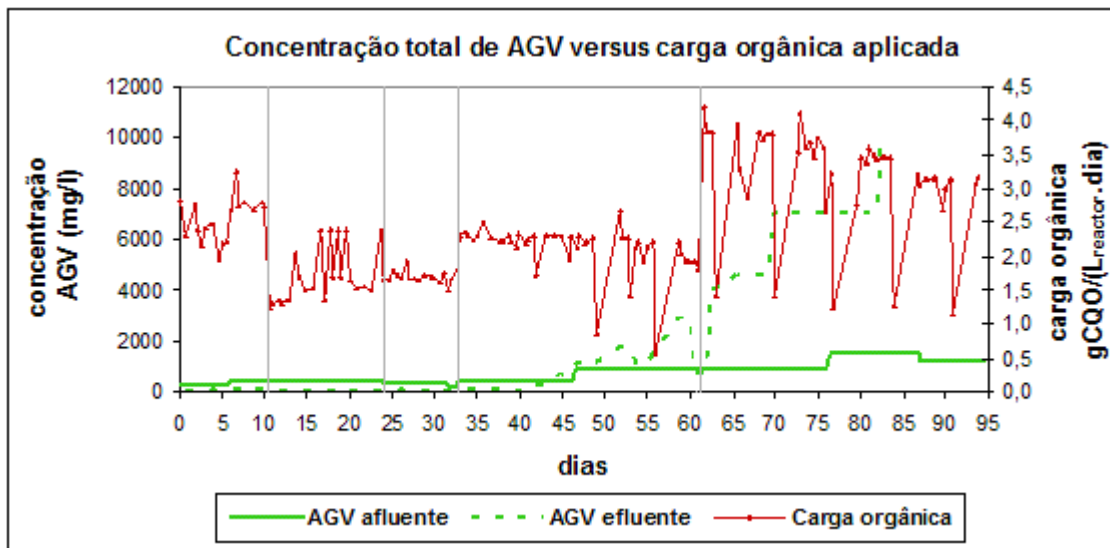


Figura 7.5- Concentração total de AGV no afluente e no efluente do digestor, em função da carga orgânica aplicada.

Relativamente à composição do biogás (Figura 7.6), pode-se verificar que as alterações no regime de alimentação (aplicação sucessivamente crescente carga orgânica) foram geralmente acompanhadas por uma descida gradual da percentagem de metano no biogás. Durante o período de alimentação com o lote 3, a composição em metano manteve-se relativamente estável e a um nível elevado (60%), o que indica o bom funcionamento do processo neste período. A descida significativa da composição em metano, a partir do 62º dia de ensaio, indicia a entrada em inibição do processo anaeróbio neste período, após o início da aplicação do lote 4 com uma carga orgânica de 4,2 g CQO/(L_{reator}.dia).

Pode-se ainda constatar que a concentração de ar, medida pelos gases N₂+O₂, atingiu os 35%, no 15º dia de ensaio, tendo-se apenas verificado condições estritamente anaeróbias a partir do 33º dia. Avaliando a eficiência de remoção de AGV até ao 33º dia de ensaio, pode-se concluir que a presença de ar no digestor não terá sido suficientemente elevada para causar toxicidade significativa nas bactérias estritamente anaeróbias.

A concentração de H₂S no biogás apenas atingiu uma concentração significativa (6,5%) no 65º dia de ensaio, altura em que o processo poderá ter sofrido alguma inibição. A avaliar pela acumulação de acetato pode-se concluir que as concentrações de sulfato e de ácido sulfídrico poderão ter sido responsáveis pela inibição significativa das BMA a partir do 62º dia de ensaio.

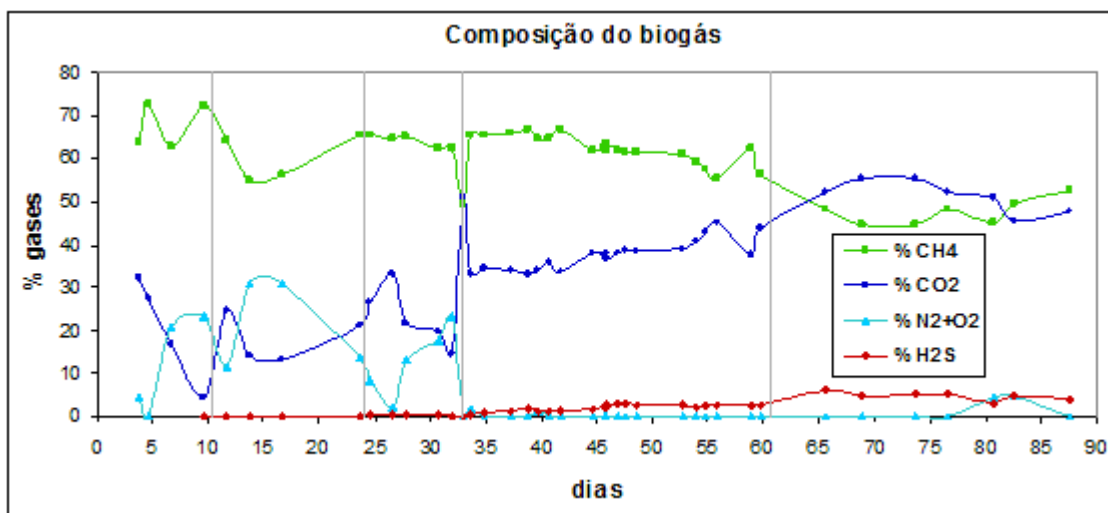


Figura 7.6- Variação da composição do biogás em CH₄, CO₂, N₂+O₂ e H₂S.

Através da análise da Figura 7.7 podemos verificar um aumento significativo da concentração de acetato no dia 62º dia de ensaio, com a alteração do regime de alimentação para o lote 4. Logo após o início da aplicação do lote 4 (dia 63) verificou-se um aumento brusco da concentração de acetato de 475 mg/l para 2750 mg/l, presumindo-se que, a partir desta altura, terá ocorrido a inibição das BM responsáveis pela degradação do acetato. A concentração de acetato continuou a acumular-se no digestor até ao final do período experimental, atingindo a concentração de 6400 mg/l, no 84º dia de ensaio. Os resultados deste estudo confirmam que a acumulação de acetato é o factor limitante durante o tratamento por via anaeróbia de efluentes com concentração elevada em sulfato, tal como foi sugerido por Omil *et al.* (1996) e Lens *et al.* (1998b). Até ao 45º dia de ensaio não se verificou inibição do processo. A partir deste dia o acetato começou a apresentar um aumento da sua concentração no digestor, tendo-se verificado uma descida significativa na produção de biogás. Face a estes dados, pode-se concluir que se verificou o início da inibição do processo a partir do 45º dia de ensaio, quando o acetato começou a apresentar concentrações superiores a 530 mg/l. No entanto, os efeitos de inibição das BM, com a consequente diminuição da produção de biogás, foram verificados com mais intensidade a partir do 62º dia de ensaio, com a mudança para o lote 4. Nesta altura a concentração de acetato era > 2,4 g/l. Estes dados são concordantes com os de Nielsen *et al.* (2007), que observaram inibição significativa durante a co-digestão de diferentes tipos de substrato em reactores completamente agitados, para uma concentração de acetato superior a 2,7 g/l.

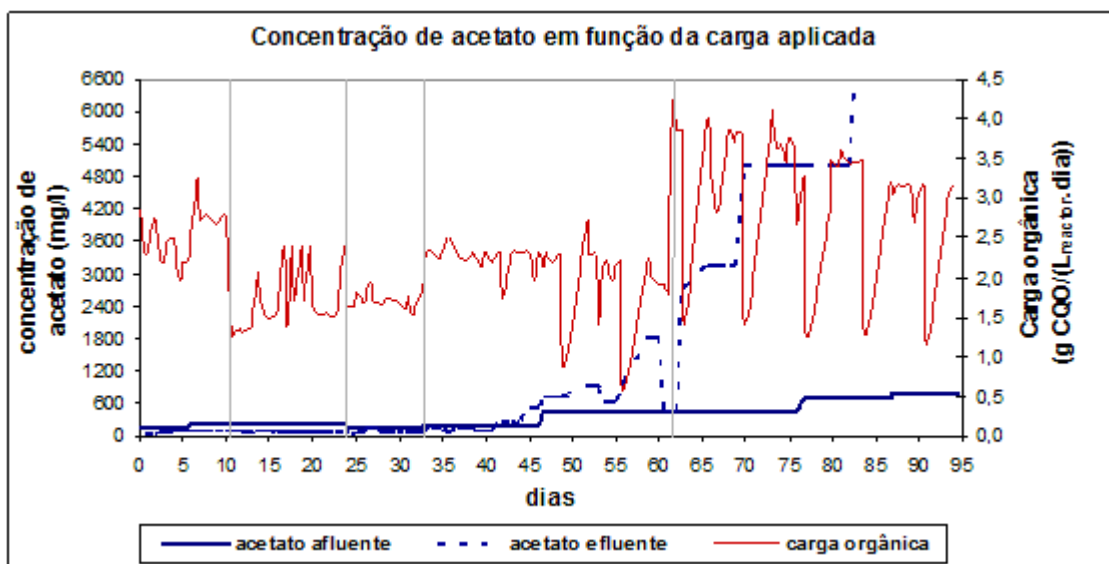


Figura 7.7- Concentração de acetato no afluente e no efluente do digestor, em função da carga orgânica aplicada.

A concentração de propionato (Figura 7.8) apresentou valores bastante mais reduzidos comparativamente à concentração de acetato. Este facto pode ser explicado pelo facto de, a avaliar pela eficiência de remoção de sulfato (Figura 7.14), as BRS não terem registado inibição durante todo o período experimental, ao contrário das BM que evidenciaram inibição significativa. Face a estes resultados podemos concluir que o propionato deve ter sido utilizado preferencialmente pelas BRS e o acetato pelas BM.

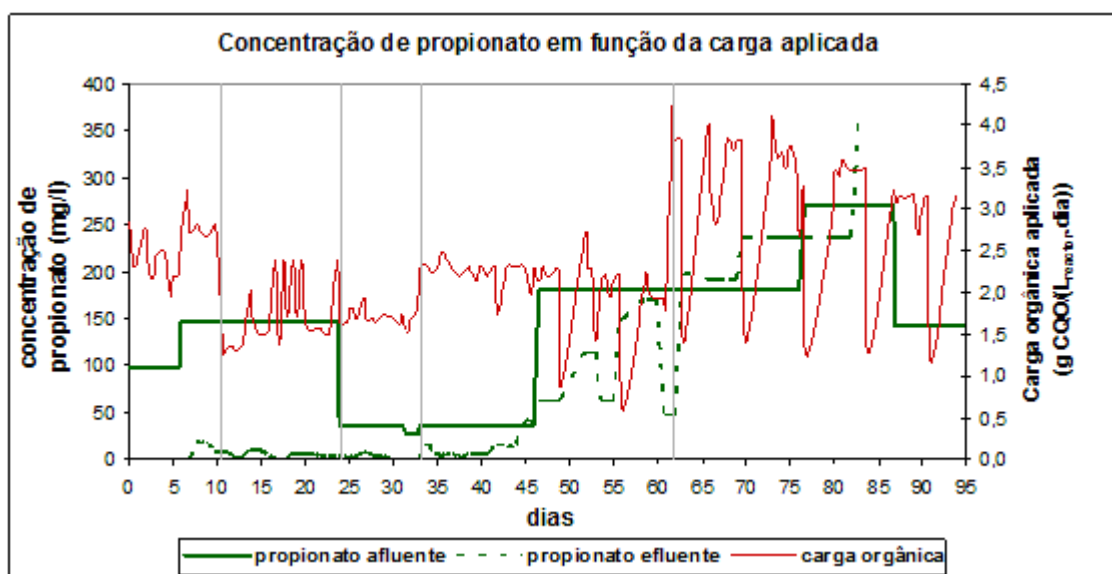


Figura 7.8- Concentração de propionato em função da carga orgânica aplicada.

Relativamente à concentração de butirato, valerato e respectivas formas isoméricas (Figura 7.9) podemos verificar que apenas surge acumulação significativa destes produtos intermediários a partir do 62º dia de ensaio, com a alteração do regime de alimentação para o lote 4, embora se tenha começado a observar um aumento das suas concentrações a partir do 45º dia de ensaio (meio tempo de utilização do lote 3). No 83º dia de ensaio, a concentração destes produtos apresentou a seguinte proporção: butirato (500mg/l) > iso-butirato (360 mg/l) > valerato (300 mg/l) > iso-valerato (285 mg/l).

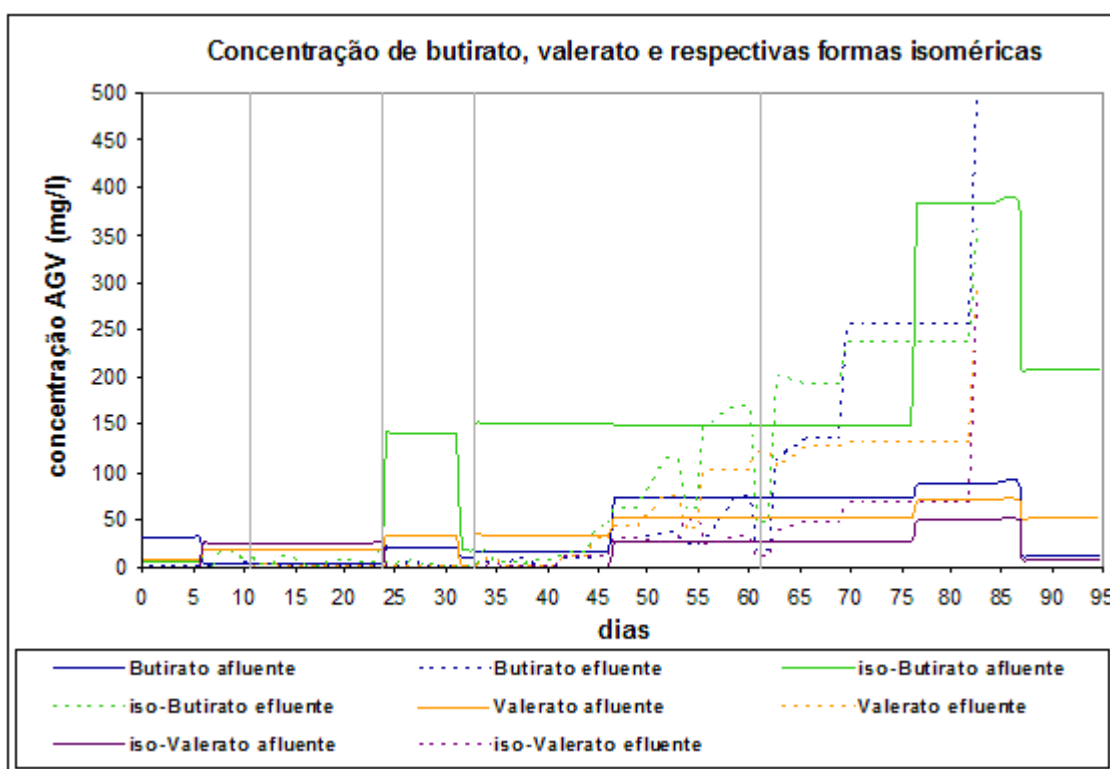


Figura 7.9- Concentração de butirato, valerato e respectivas formas isoméricas no afluente e no efluente do digestor anaeróbio, ao longo de todo o ensaio.

A análise dos parâmetros CQO e SV fornecem uma boa “primeira impressão” do nível de carga orgânica presente no efluente do digestor, assim como no afluente, sendo também um bom indicador da eficiência geral da degradação do substrato.

Pela análise da figura 7.10 podemos verificar que o digestor apresentou, durante a fase de arranque, uma eficiência de remoção de CQO de cerca de 40%. Durante o período de alimentação com o lote 1, que se iniciou no dia 11º dia, a eficiência de remoção manteve-se relativamente constante nos 40%. Durante o período de alimentação com o lote 2, compreendido entre os dias 24 e 33, verificou-se um aumento ligeiro da eficiência de remoção

do CQO, de 41 para 44%. No 33º dia iniciou-se a alimentação com o lote 3, verificando-se um aumento da eficiência de remoção do CQO para 50%, que se manteve sensivelmente constante até ao 44º dia de ensaio. A partir do 44º dia, a eficiência de remoção sofreu uma redução gradual, atingindo valores a rondar os 40%, no 60º dia. A redução da eficiência de remoção de CQO neste período é acompanhada por um acréscimo gradual na concentração de AGV (Figura 7.5).

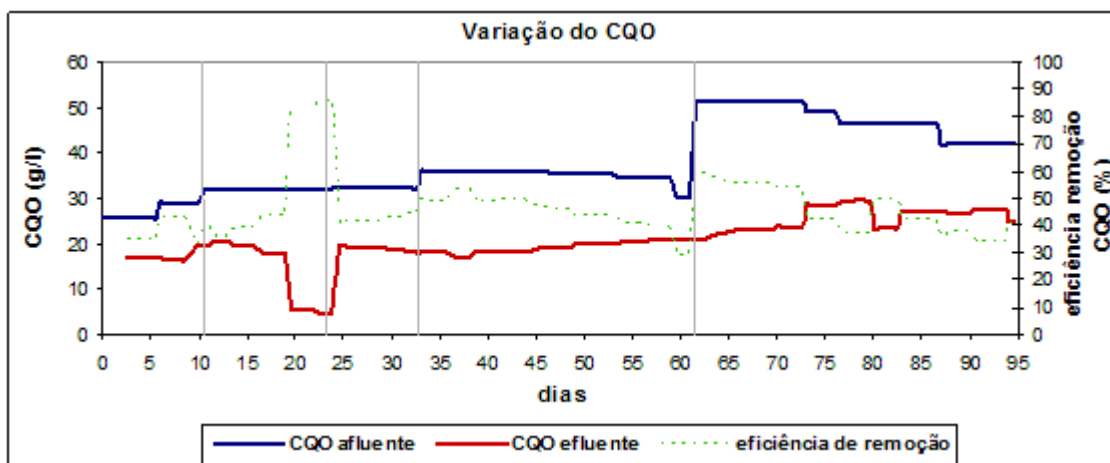


Figura 7.10- Variação do CQO no afluente e no efluente do digestor e respectiva eficiência de remoção ao longo de todo o ensaio.

No 62º dia, o digestor foi sujeito a uma sobrecarga orgânica com a passagem do lote 3 para o lote 4, de 1,8 gCQO/(L_{reator}·dia) para 4,2 gCQO/(L_{reator}·dia). No entanto, a acumulação de CQO no efluente foi muito ligeira nos 10 dias que se seguiram ao início da sua aplicação, evidenciando uma boa capacidade de remoção do CQO que atingiu valores a rondar 55% de eficiência. Apesar da eficiência de remoção de CQO ter aumentado para 55% a partir do dia 62, verificou-se neste período uma acumulação bastante significativa de AGV para concentrações consideradas inibitórias para o bom funcionamento do processo anaeróbio (Figura 7.5).

Nas Figuras 7.11 a 7.14 são apresentados os dados relativos à variação das concentrações das várias fracções de sólidos analisados no afluente e efluente do digestor, durante o período experimental, bem como a sua eficiência de remoção.

Através da análise da Figura 7.11, relativa à concentração de ST, pode-se verificar um aumento progressivo da sua concentração no afluente do digestor, que se encontra associado ao aumento da proporção do efluente da indústria de fermentos relativamente à proporção das LM. Pode-se verificar igualmente que a concentração de sólidos totais no efluente sofreu um aumento gradual ao longo de todo o período experimental, acompanhando o aumento

observado no afluente do digestor. Ao longo dos 95 dias de operação do digestor, a concentração de ST no efluente variou de 16,5 até 40 g/l.

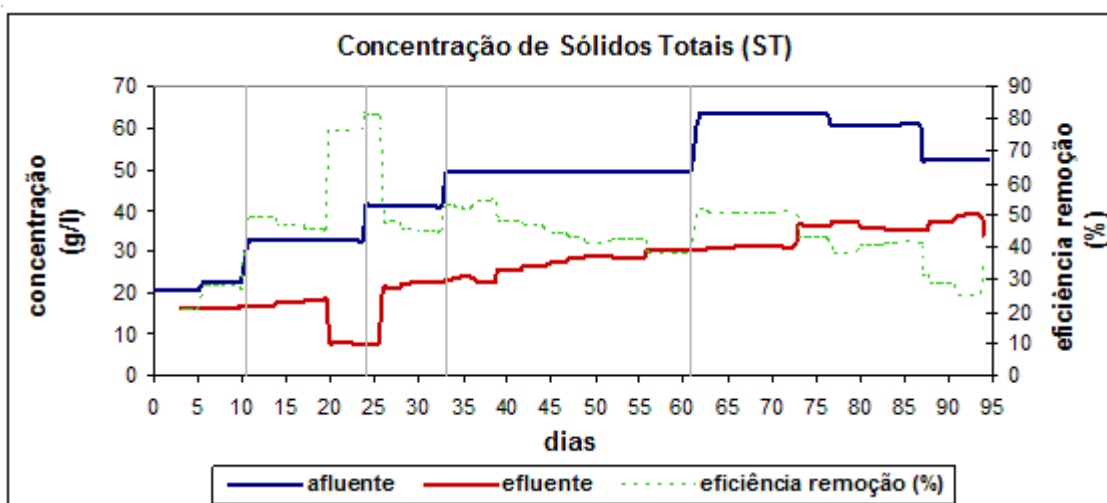


Figura 7.11- Concentração de sólidos totais no afluente e no efluente no digestor e respectiva eficiência de remoção ao longo de todo o ensaio.

Pela análise da Figura 7.12 pode-se concluir que a eficiência de remoção dos sólidos voláteis prosseguiu com poucas variações durante o período experimental, variando geralmente entre 50 e 70%. Apenas a partir do 73º dia se verificou um aumento do teor em SV no efluente do digestor, devido provavelmente à inibição das BM.

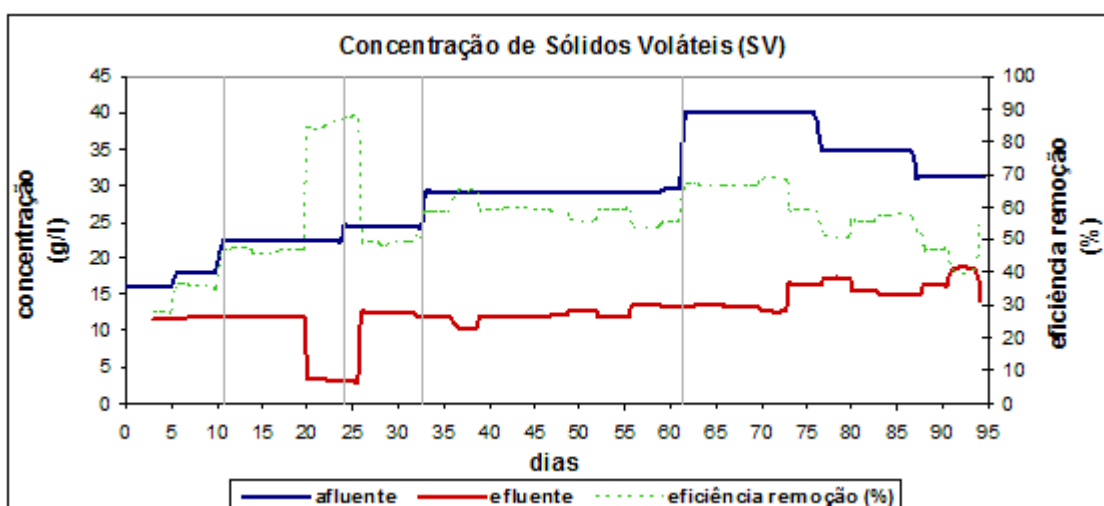


Figura 7.12- Concentração de sólidos voláteis no afluente e no efluente do digestor e respectiva eficiência de remoção ao longo de todo o ensaio.

Pela análise da Figura 7.13 pode-se verificar que o teor em SST no efluente diminuiu gradualmente ao longo do período experimental, sofrendo uma variação de 17 até 5 g/l e evidenciando uma actividade satisfatória das bactérias no processo degradativo.

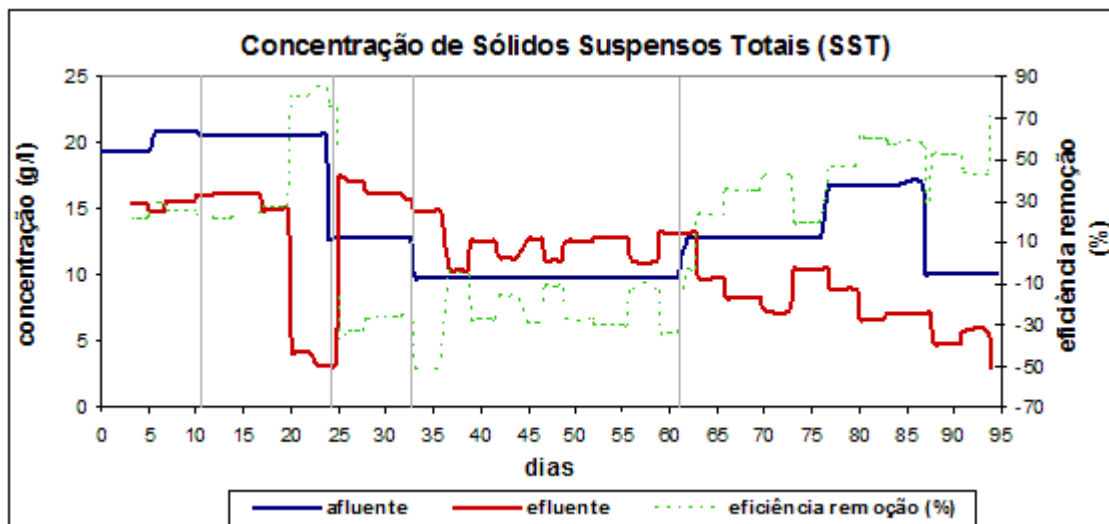


Figura 7.13- Concentração de sólidos suspensos totais no afluente e no efluente no digestor e respectiva eficiência de remoção ao longo de todo o ensaio.

A concentração de SSV (figura 7.14) apresentou uma variação análoga à dos SST.

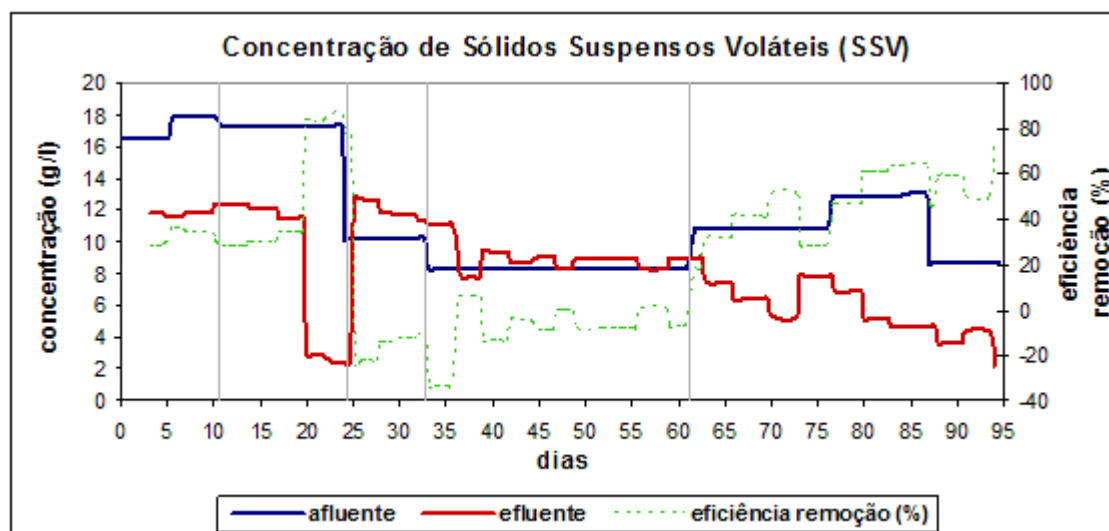


Figura 7.14- Concentração de sólidos suspensos voláteis no afluente e no efluente do digestor e respectiva eficiência de remoção ao longo de todo o ensaio.

Analisando a Figura 7.15 pode-se verificar um aumento gradual da concentração de sulfato no afluente nos períodos de alteração do regime de alimentação, associado a um aumento da proporção do volume de efluente da indústria de fermentos. No 11º dia, iniciou-se a alimentação do digestor com um afluente com uma concentração de sulfato de 1 g/l. Durante o período de alimentação com o lote 1 verificou-se uma eficiência de remoção de sulfato bastante elevada, de 70% no 12º dia, continuando a aumentar gradualmente até atingir uma eficiência de 90%, no 19º dia. No 24º dia de ensaio, o regime de alimentação sofreu alteração para o lote 2, com uma concentração de sulfato no afluente de 1,7 g/l. Face a esta alteração houve um aumento da concentração de sulfato no efluente, ocorrendo a consequente diminuição da sua eficiência de remoção de 86 % para 54%, até ao 33º dia. No 33º dia de ensaio, o regime de alimentação foi novamente alterado para o lote 3 (2350mg/l de sulfato no afluente). Imediatamente a seguir ao início da aplicação do lote 3 verificou-se um aumento da eficiência de remoção até 67,4%, e uma diminuição da concentração do sulfato no efluente. Entre o 40º dia de ensaio e o 62º dia, a concentração de sulfato no efluente manteve-se nos 950 mg/l, estando associada a uma remoção de cerca de 60% pelas BRS. No 62º dia de ensaio, o regime de alimentação sofreu nova alteração para o lote 4 (2800 mg/l de sulfato). Esta alteração praticamente não teve efeito no processo, uma vez que a concentração de sulfato no efluente aumentou apenas de 959 mg/l para 1037 mg/l nos dias que se seguiram.

Avaliando a acumulação de acetato que se verificou no efluente com a alteração do regime de alimentação para o lote 4 (62º dia ensaio), a concentração de sulfato de 2800 mg/l que se verificou nessa altura deve ter contribuído para a inibição das BMA. Apesar da inibição das BMA devido à concentração de sulfato, as BRS nunca ganharam vantagem competitiva relativamente às BM a avaliar pela razão CQO/sulfato (figura 7.16).

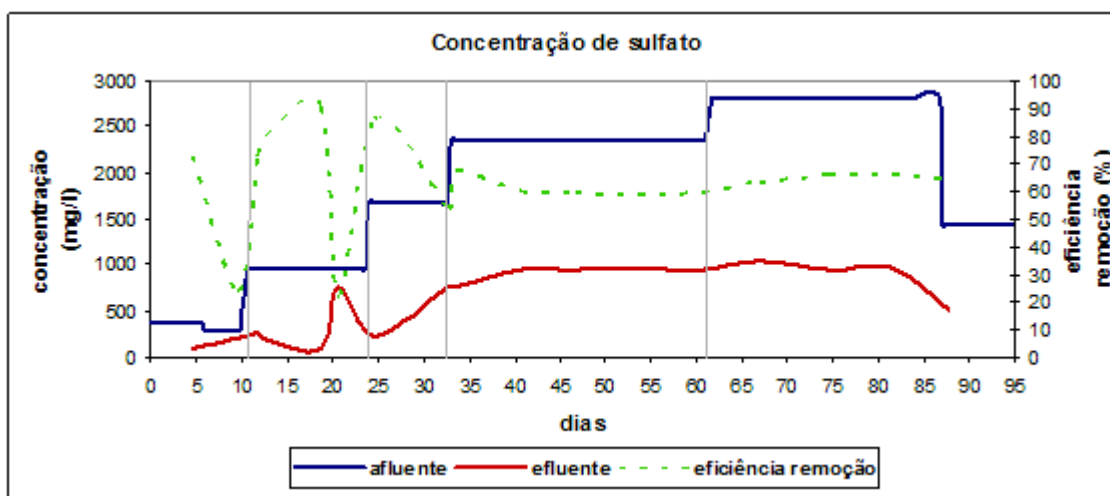


Figura 7.15- Variação da concentração de sulfato no afluente e no efluente do digestor e respectiva eficiência de remoção ao longo de todo o ensaio.

A razão CQO/sulfato foi sempre superior a 12. Na literatura muitos autores afirmam que a concentração de sulfato pode tornar-se problemática para o funcionamento do processo apenas para uma razão de $\text{CQO}/\text{SO}_4^{2-} < 10$. No entanto, isso não se verificou neste estudo, uma vez que terá ocorrido inibição das BMA para uma razão de 12. Apesar da inibição das BMA, a produção de metano registou uma recuperação no final do período experimental, provavelmente devido à presença de substratos não competitivos para as BM, como a trimetilglicina, um composto azotado solúvel que se encontra nos efluentes da indústria da levedura.

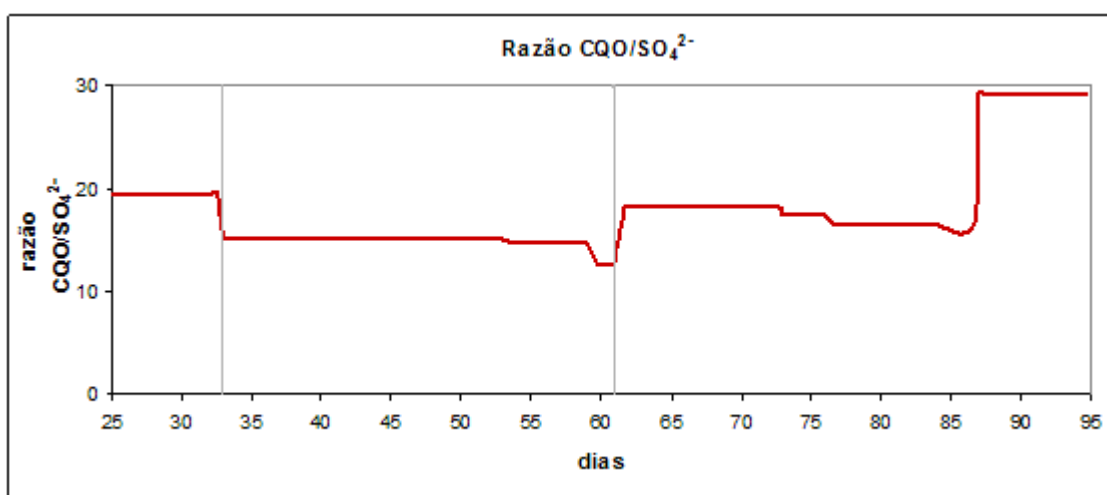
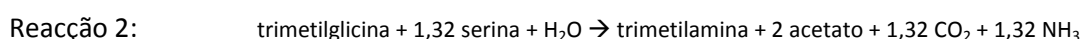


Figura 7.16- Razão $\text{CQO}/\text{SO}_4^{2-}$.

O azoto é um elemento essencial para o processo de DA, sendo o principal constituinte de ácidos nucleicos e de aminoácidos. O azoto, na forma de amoníaco, também pode apresentar um efeito tóxico quando presente em concentrações excessivas.

Pela análise da Figura 7.17 pode-se verificar que a concentração de azoto amoniacal sofreu incrementos substanciais ao longo do período experimental, particularmente durante o período de alimentação com o lote 3, compreendido entre os dias 33 e 62. Os aumentos significativos do azoto amoniacal no efluente do digestor podem ser explicados pela existência do composto trimetilglicina (Zub *et al.*, 2008). Durante o tratamento anaeróbio deste tipo de efluentes, este composto é totalmente degradado em várias fases do processo de digestão (reações 1 e 2):



Os subprodutos trimetilamina e aminas metiladas são degradados subsequentemente pelas BM, produzindo CO_2 , amónia e metano (Thalasso *et al.*, 1999). A amónia produzida aumenta o poder tampão do sistema, permitindo uma maior estabilidade para o seu funcionamento. Estes dados permitem explicar a estabilidade dos valores de pH verificada ao longo deste estudo. O amoníaco produzido durante o processo impediu a descida acentuada do pH quando se verificou acumulação de AGV, mesmo nos momentos em que foram aplicadas cargas orgânicas bastante elevadas, como no 62º dia com a aplicação do lote 4.

Apesar deste composto apresentar um efeito benéfico no processo anaeróbio ao conferir poder alcalino ao sistema, o tratamento do efluente da indústria da levedura apresenta também um risco moderado de inibição por amónia (Thalasso *et al.*, 1999). A partir do 55º dia de ensaio, a concentração de azoto amoniacal rondou o valor de 1,3 g/l. Alguns autores sugerem que a inibição por compostos de amónia começa a verificar-se para valores desta ordem de grandeza (Nielsen e Angelidaki, 2008; Hansen *et al.*, 1998).

É de salientar que o composto trimetilglicina não é detectável no ensaio de CQO com dicromato de potássio, o que pode resultar na aplicação de cargas orgânicas superiores ao esperado, podendo contribuir de forma significativa para a inibição do processo, uma vez que este composto está presente usualmente no efluente industrial a uma concentração superior a 6%, em termos de sólidos totais (Zub *et al.*, 2008). É importante também referir que a acumulação excessiva de acetato que se verificou neste estudo pode ser explicada em parte pela reacção 1.

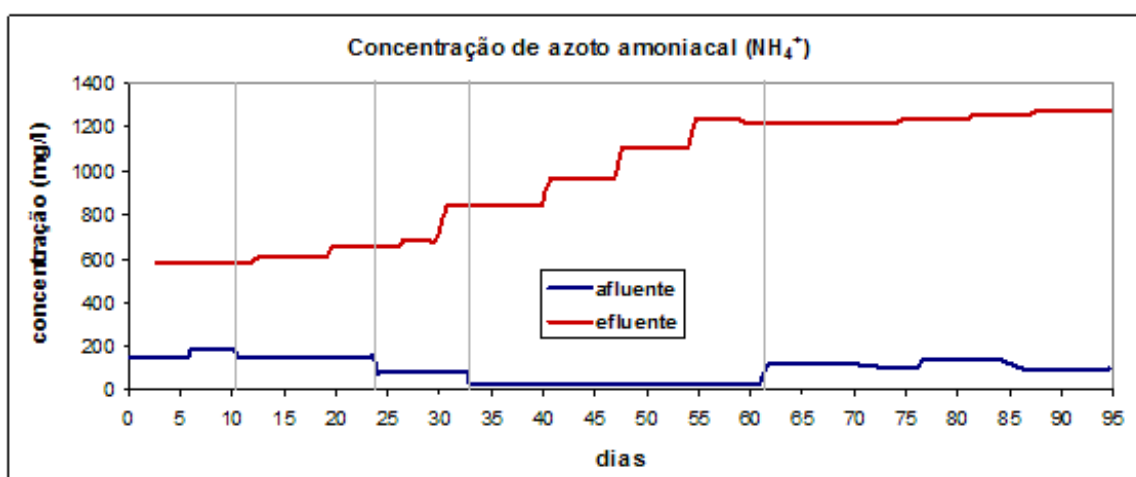


Figura 7.17- Variação da concentração de azoto amoniacal no afluente e no efluente do digestor anaeróbio ao longo de todo o ensaio.

Através da análise da Figura 7.18 pode-se verificar que a concentração total de azoto *Kjeldhal* no afluente do digestor sofreu pouca variação ao longo do tempo, variando de 1,5 a 2,5 g/l. Esta gama de concentrações são adequadas para a satisfação das necessidades nutricionais das bactérias, estando abaixo do limite inicial (>4 g/l) no qual Liu e Sung (2003) verificaram inibição das BM. A eficiência de remoção do azoto *Kjeldhal* no digestor variou, na maior parte dos dias de ensaio, entre 5 e 20%.

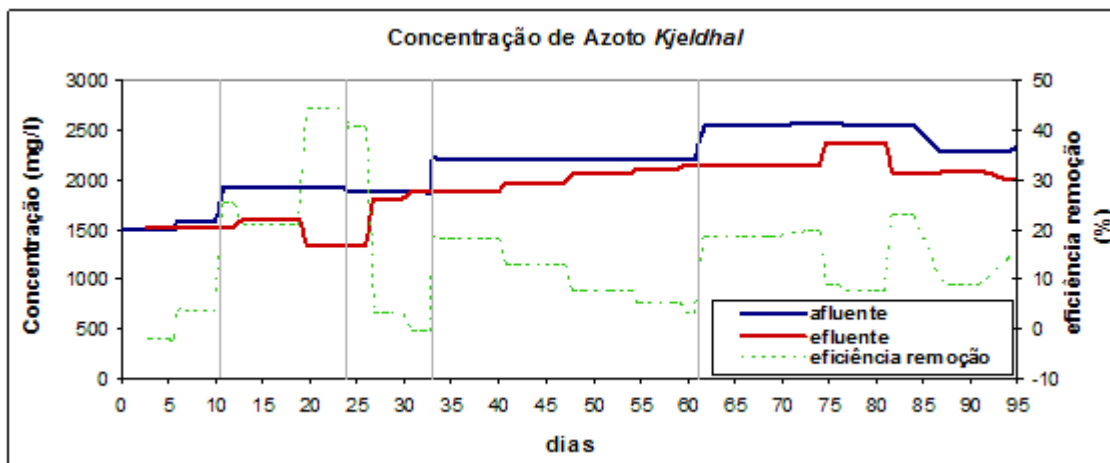


Figura 7.18- Variação da concentração de azoto *Kjeldhal* no afluente e no efluente do digestor e respectiva eficiência de remoção ao longo de todo o ensaio.

Através da análise da Figura 7.19, pode-se verificar uma descida bastante acentuada da concentração de fósforo no efluente do digestor ao longo do período experimental, variando de 400 mg/l no 9º dia de ensaio, até 72 mg/l, no final do estudo.

O fósforo é um nutriente essencial para o bom funcionamento do processo anaeróbio, devendo estar presente no meio numa proporção N/P de 7/1 (Di Berardino, 2006b). Tendo em conta a concentração de azoto *Kjeldhal*, podemos concluir que se verificou défice de fósforo a partir do 37º dia, ao apresentar uma proporção N/P de 9,5/1. O défice em fósforo agravou-se com o decorrer do estudo. O défice de fósforo durante o tratamento anaeróbio de efluentes da levedura do pão, pode ser explicado pelas observações de Krapivina *et al.* (2007). Estes autores referem a ocorrência de precipitação do fósforo durante o processo anaeróbio, com a formação de um composto insolúvel, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. O fósforo precipita devido à complexação com iões de cálcio, que se encontram presentes em concentrações elevadas neste tipo de efluentes. A reposição de fósforo no digestor, durante o tratamento de efluentes da indústria da levedura, pode, deste modo, ser essencial para o bom funcionamento das bactérias.

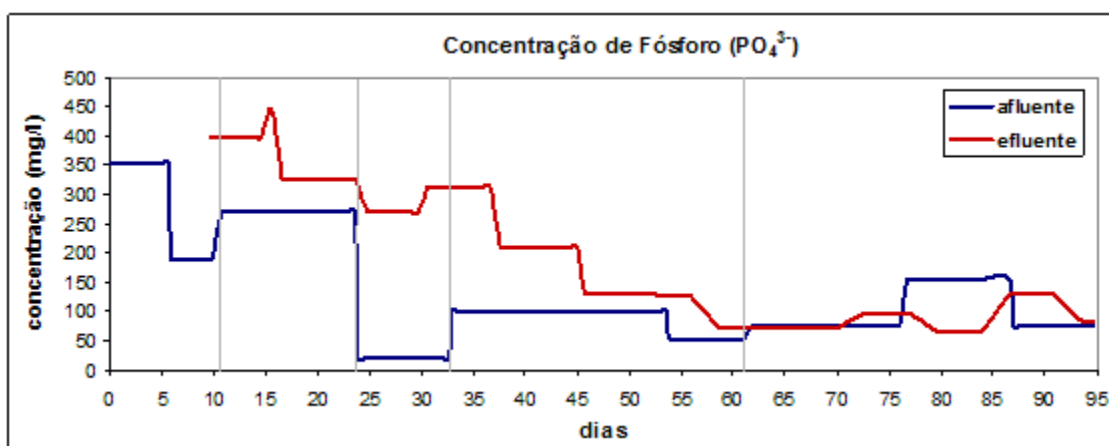


Figura 7.19- Variação da concentração de fósforo no aflente e no efluente do digestor.

Através da análise da Figura 7.20 pode-se verificar que a taxa diária de produção de biogás sofreu o aumento mais significativo após o 33º dia de ensaio, com a alteração do regime de alimentação para o lote 3, atingindo um pico de produção de $1,23 \text{ dm}^3/(\text{L}_{\text{reator}} \cdot \text{dia})$, no 38º dia. Durante o período de arranque do digestor, a taxa diária de produção de biogás (média dos primeiros 10 dias) foi de $0,3 \text{ dm}^3/(\text{L}_{\text{reator}} \cdot \text{dia})$. Considerando o período em que se verificou uma maior taxa de produção de biogás (5 primeiros dias de alimentação com o lote 3, com uma taxa de produção diária média de $1,06 \text{ dm}^3/(\text{L}_{\text{reator}} \cdot \text{dia})$), podemos constatar que a implementação da co-digestão possibilitou uma produção de biogás 3,5 vezes superior neste período comparativamente à fase de arranque. No entanto, este aumento não foi duradouro, tendo a taxa de produção baixado significativamente a partir do 38º dia de ensaio. Esta diminuição deveu-se provavelmente à inibição das BM, devido à concentração de sulfato no aflente, que sofreu, nesta altura, um aumento (1,70 para 2,75 g/l). No 62º dia de ensaio, com a mudança do regime de alimentação para o lote 4, a concentração de sulfato no aflente do digestor sofreu novo incremento, para além de se ter registado, simultaneamente, uma acumulação bastante significativa de acetato no efluente. Face a esta situação, seria de esperar uma inibição bastante significativa das BM. No entanto verificou-se que, durante o período de alimentação com o lote 4, as BM mantiveram uma actividade significativa, apesar da concentração elevada de sulfatos. Krapivina *et al.* (2007) registaram o mesmo fenómeno, tendo atribuído à presença do composto trimetilglicina no líquido em digestão, a manutenção de uma população significativa de BM na presença de concentrações elevadas de sulfato, devido ao facto de ser um substrato utilizado exclusivamente pelas BM, degradando-o em CO_2 , amónia, e metano.

As fortes oscilações que se verificaram na produção de biogás, a partir do 49º dia de ensaio, devem-se ao facto de se ter deixado de alimentar o digestor durante os fins-de-semana.

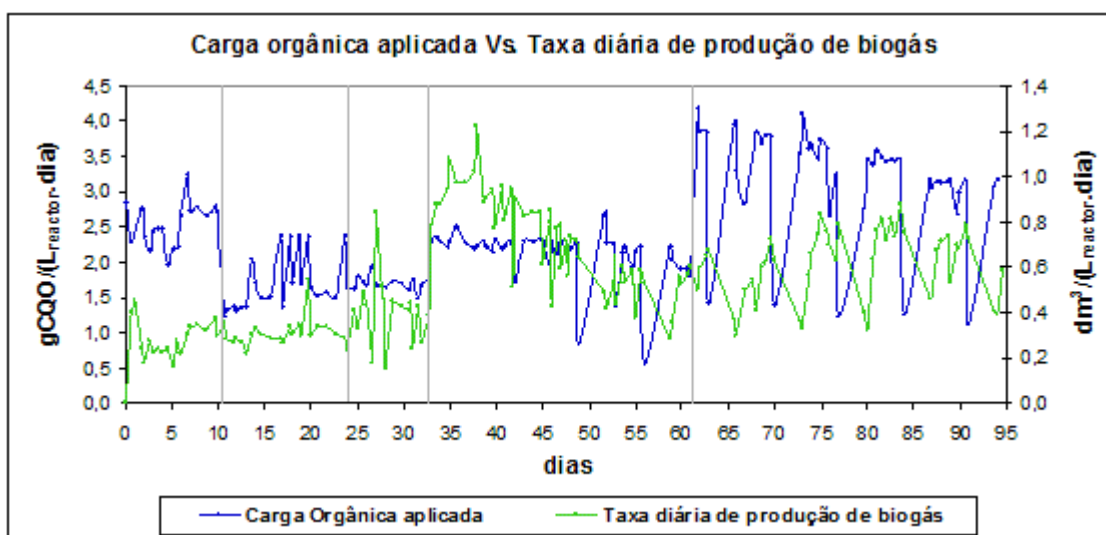


Figura 7.20- Variação da taxa diária de produção de biogás em função da carga orgânica aplicada ao digestor.

Ao avaliar-se a produção total de biogás no digestor (Figura 7.21) pode-se concluir, pelos declives dos vários segmentos de recta, que o período de alimentação com o lote 3 foi aquele em que as bactérias exibiram a maior taxa de actividade, com uma produção de biogás bastante significativa.

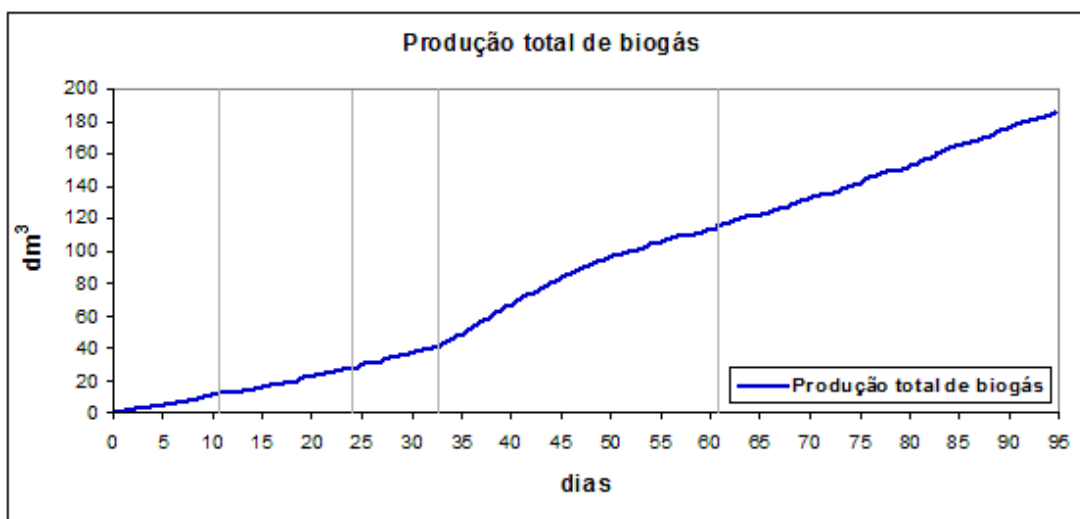


Figura 7.21- Produção total de biogás ao longo do ensaio.

Face a estes dados, pode-se concluir que o regime de funcionamento da co-digestão à escala real na ETAR de Setúbal que possibilitaria uma maior rentabilidade em termos energéticos, e sem efeitos de inibição significativos, seria o da alimentação com o lote 3 (condições gerais de

funcionamento (afluente com uma composição de 50% LM + 50% M (v/v); TRH de 15,6 dias; Carga volúmica média de 2,16 gCQO/(L_{reactor}·dia); concentração média de sulfatos no afluente de 2,4 g/l).

8. Balanço energético aos digestores anaeróbios da ETAR de Setúbal funcionando num cenário hipotético de co-digestão

Neste capítulo é apresentada uma estimativa da energia (térmica e eléctrica) que é possível produzir com a implementação da co-digestão nos digestores anaeróbios da ETAR de Setúbal, recorrendo ao sistema de co-geração que se encontra instalado no local. Com este balanço pretende-se estimar os benefícios energéticos e económicos da utilização dos três digestores em funcionamento paralelo, para o tratamento simultâneo das lamas domésticas com o efluente da empresa MAURI Fermentos.

O balanço energético realizado tem em conta apenas o funcionamento do processo anaeróbio na ETAR, não englobando as outras fases do tratamento. Deste modo, são considerados todos os gastos energéticos desde a bombagem das LM para os 3 digestores, o funcionamento dos equipamentos para a recirculação das lamas, o aquecimento dos digestores, o funcionamento dos grupos motor-gerador e a bombagem das lamas dos digestores para um gasómetro onde ocorre a sedimentação das lamas e o armazenamento do biogás numa campânula móvel. A ETAR dispõe ainda de um filtro de mármore para a precipitação do ácido sulfídrico presente no biogás.

Para a realização desta estimativa foram considerados os dados obtidos no ensaio laboratorial, para o período em que o processo exibiu maior estabilidade e eficiência, que correspondeu à alimentação do digestor laboratorial com o lote 3 (entre o 33º dia e o 61º dias de ensaio). Este lote era composto por uma proporção de 50% de lamas mistas + 50% de efluente industrial da MAURI Fermentos (v/v). O digestor foi operado com um TRH de 15,6 dias. Para a realização desta estimativa foram utilizados os dados apresentados no Quadro 8.1:

Quadro 8.1- Parâmetros do estudo laboratorial utilizados no balanço energético aos digestores da ETAR de Setúbal.

Parâmetros de funcionamento	Estudo laboratorial	Estimativa para a ETAR
Caudal de alimentação	240 ml/dia	240 m ³ /dia
Produção de biogás	3,1019 dm ³ /dia	3101,9 m ³ /dia
Composição de CH ₄ no biogás	65 % (v/v)	

O valor de produção de biogás utilizado para a estimativa correspondeu à média do 41º, 42º e 43º dias de operação do digestor em laboratório.

O valor de PCI do biogás utilizado para os cálculos, tendo em conta uma composição em CH₄ de 65%, foi 6,5 kWh/m³ (Guia Técnico do Biogás, 2000).

O sistema de co-geração, instalado na ETAR de Setúbal, é constituído por 2 grupos motor-gerador, cada um com uma potência de 335 kW eléctricos e 528 kW térmicos (Quadro 8.2).

Quadro 8.2- Potência e eficiência do sistema de co-geração da ETAR de Setúbal.

Potência eléctrica total (kW)	670
Potência térmica total (kW)	1056
Eficiência de conversão eléctrica (%)	34,76
Eficiência de conversão térmica (%)	56,38

Com os dados do quadro 8.2 foi calculada a quantidade de energia térmica e eléctrica que seria produzida na ETAR com a implementação da co-digestão das lamas mistas e do efluente da MAURI Fermentos (Quadro 8.3).

Quadro 8.3- Estimativa da produção de energia eléctrica e térmica com a implementação da co-digestão na ETAR de Setúbal.

Tipo de energia	Energia produzida (kWh/dia)	Energia produzida (GWh/mês)
Térmica	11367,6	341
Eléctrica	7008,5	210

A energia térmica (E_T) e energia eléctrica (E_E) foram calculadas através das seguintes expressões:

$$E_T = \text{Taxa diária de prod. de biogás}_{(m^3/d)} \times \text{PCI biogás}_{(kWh/m^3)} \times \text{Eficiência de conv. térm.}_{(\%)} \times 0,01$$

$$E_E = \text{Taxa diária de prod. de biogás}_{(m^3/d)} \times \text{PCI biogás}_{(kWh/m^3)} \times \text{Eficiência de conv. eléc.}_{(\%)} \times 0,01$$

Parte da energia térmica e da energia eléctrica produzida na ETAR é utilizada para o funcionamento do processo anaeróbio. Os consumos de energia eléctrica (Quadro 8.4) estão associados ao funcionamento de vários equipamentos: a bombagem do afluente, as bombas de recirculação de lamas, as bombas de aquecimento, as bombas de arrefecimento dos geradores, a torre de arrefecimento (constituída por um permutador de calor equipado com 4 ventiladores para dissipar o calor do circuito de arrefecimento do gerador) e as bombas dos grupos motor-gerador. Todos estes equipamentos funcionam 24 horas por dia, exceptuando a bombagem do afluente, que apenas funciona 12 horas por dia.

Quadro 8.4- Estimativa da energia eléctrica consumida no funcionamento do processo de co-digestão anaeróbia.

Equipamento	Quantidade	Potência unitária (kW)	Potência total (kW)	Energia total consumida (kWh/dia)
Bombagem do afluente	3	0,75	2,25	21,6
Bombas de recirculação de lamas	3	5,5	16,5	316,8
Bombas de aquecimento	3	0,55	1,65	31,7
Bombas de arrefecimento dos geradores	2	0,55	1,1	21,1
Torre de arrefecimento	4	0,75	3	57,6
Bombas dos grupos motor-gerador	2	1,1	2,2	42,2
TOTAL			26,7	491

A energia total consumida (kWh/dia) foi calculada multiplicando a potência unitária por 0,8 (os equipamentos funcionam apenas a 80% da potência total) e multiplicando pelo número de horas diárias de funcionamento.

Relativamente à energia térmica, parte da produção é utilizada para a manutenção da temperatura de funcionamento dos digestores a 35°C.

O cálculo dos requisitos em energia térmica para o funcionamento do processo anaeróbio teve por base as perdas térmicas através da superfície dos digestores, assim como a energia térmica necessária para a manutenção da temperatura de 35°C da alimentação, constituída pela mistura do caudal de 240 m³/dia de afluente (LM + efluente da Mauri) com o caudal de recirculação de 3840 m³/dia de lamas em digestão no interior do digestor. O caudal da mistura

é aquecido de novo até à temperatura de 35°C por intermédio de permutadores de calor sendo posteriormente bombeado para o interior do digestor.

Os 3 digestores disponíveis para a implementação da co-digestão na ETAR de Setúbal são cilíndricos e semi-enterrados, com forma cónica no fundo e no topo (Quadro 8.5).

Quadro 8.5- Dimensões dos digestores anaeróbios da ETAR de Setúbal.

Altura da parede lateral acima do solo (m)	9,15
Altura da parede lateral (m)	1,35
Altura do cone de fundo (m)	5
Altura do cone de topo (m)	3,92
Diâmetro (m)	15

As paredes laterais dos digestores são constituídas por uma camada de betão, uma camada de lã de rocha e uma placa metálica exterior (Quadro 8.6). O tecto e o fundo cónico são constituídos somente por uma camada de betão.

Quadro 8.6- Espessuras dos materiais de isolamento térmico dos digestores e respectivos coeficientes de condutividade térmica.

Material de revestimento	Espessura (cm)	Coefficiente de condutividade térmica* (W/(m.°C))
Parede de betão acima do solo	40	1,65
Camada de lã de rocha	10	0,045
Placa de alumínio	15	236
Parede de betão abaixo de solo (terra seca)	40	0,24

(* fonte: Guia Técnico de biogás, 2000)

Dividindo o coeficiente de condutividade térmica pela espessura obtemos os coeficientes de transmissão térmica (Quadro 8.7).

Quadro 8.7- Coeficientes de transmissão térmica nos digestores.

Superfície do digestor	Coeficiente de transmissão térmica ((W/(m ² .°C)))
Tecto cónico (betão)	4,125
Parede acima do solo (betão + lã + alumínio)	0,406
Parede abaixo do solo (betão + lã + alumínio)	0,257
Fundo cónico (betão)	0,6

A quantidade de energia térmica necessária para o funcionamento do processo anaeróbio na ETAR depende fortemente de factores sazonais, como a temperatura. Para a realização desta estimativa consideraram-se as condições do Quadro 8.8, nomeadamente uma temperatura média anual de 16°C (ambiente e do solo) e uma temperatura média do resíduo afluente de 18°C.

Quadro 8.8- Parâmetros utilizados para o cálculo das perdas térmicas nos digestores.

Temperatura ambiente (°C)	16
Temperatura do solo (°C)	16
Temperatura do resíduo afluente (°C)	18
Temperatura de digestão (°C)	35
Caudal afluente de água residual (m ³ /dia)	240
Calor específico da água residual (kWh/(m ³ .°C))	1,16

As perdas térmicas por condução (Q) através da superfície dos digestores foram calculadas através da expressão:

$$Q = U \times A \times (T_{\text{dig.}} - T_{\text{ext.}})$$

sendo **U** o coeficiente de transmissão térmica (W/(m².°C)), **A** a área de troca térmica (Quadro 8.9), **T_{dig.}** a temperatura de digestão no interior do digestor (°C), e **T_{ext.}** a temperatura exterior (°C) (Quadros 8.9 e 8.10).

Quadro 8.9- Áreas de superfície de troca térmica nos digestores.

Parede acima do solo	431,18 m ²
Parede abaixo do solo	63,62 m ²
Fundo cónico	212,38 m ²
Topo cónico	199,40 m ²

Quadro 8.10- Perdas térmicas por condução à superfície dos digestores.

Superfície	Perdas térmicas unitárias	Perdas térmicas totais (3 digestores)
Parede acima do solo	3323,14 W	9969,43 W
Parede abaixo do solo	310,76 W	932,29 W
Fundo cónico	2421,18 W	7263,55 W
Tecto cónico	15627,70 W	46883,09 W
Total de perdas diárias	520,39 kWh/dia	1561,16 kWh/dia

As perdas térmicas unitárias através da superfície do digestor foram calculadas multiplicando o valor de coeficiente de transmissão térmica ($(W/(m^2 \cdot ^\circ C))$) pela área de superfície de troca térmica e ainda pela diferença da temperatura interior do digestor ($35^\circ C$) para a exterior (do solo ou ambiente).

Para além das perdas térmicas por condução à superfície dos digestores, foram ainda equacionadas as perdas térmicas associadas às operações de alimentação em que o afluente é misturado com lamas em recirculação do interior do digestor.

A mistura resultante dos dois caudais é posteriormente aquecida até à temperatura de digestão de $35^\circ C$. A temperatura da mistura (T_M) foi calculada através da seguinte expressão:

$$T_M = \frac{(Q_w \times T_w) + (Q_L \times T_L)}{(Q_w + Q_L)}$$

onde Q_w é o caudal de recirculação das lamas do interior do digestor (m^3/dia), T_w a temperatura das lamas em recirculação ($^\circ C$), Q_L o caudal de lamas frescas afluente (m^3/dia), e T_L a temperatura das lamas frescas afluente ($^\circ C$).

Pela expressão acima calculou-se o T_M ($34,65^\circ\text{C}$), tendo em conta um $Q_w = 3840 \text{ m}^3/\text{dia}$, $T_w = 35^\circ\text{C}$, $Q_L = 80 \text{ m}^3$ (de cada um dos digestores) e $T_L = 18^\circ\text{C}$ (temperatura média anual).

Deste modo, os requisitos em energia térmica para o aquecimento das lamas frescas (afluente) estão associados à elevação da temperatura de $34,65^\circ\text{C}$ até 35°C , correspondendo a $32,2 \text{ kWh/dia}$ para cada digestor. Para o aquecimento do resíduo afluente no processo anaeróbio (3 digestores) serão necessários $96,6 \text{ kWh/dia}$.

O total da energia térmica necessária ao funcionamento do processo de co-digestão anaeróbia na ETAR de Setúbal corresponde à energia para aquecimento dos digestores e energia para aquecimento do resíduo afluente, perfazendo um total de $1657,7 \text{ kWh/dia}$ (Figura 8.1).

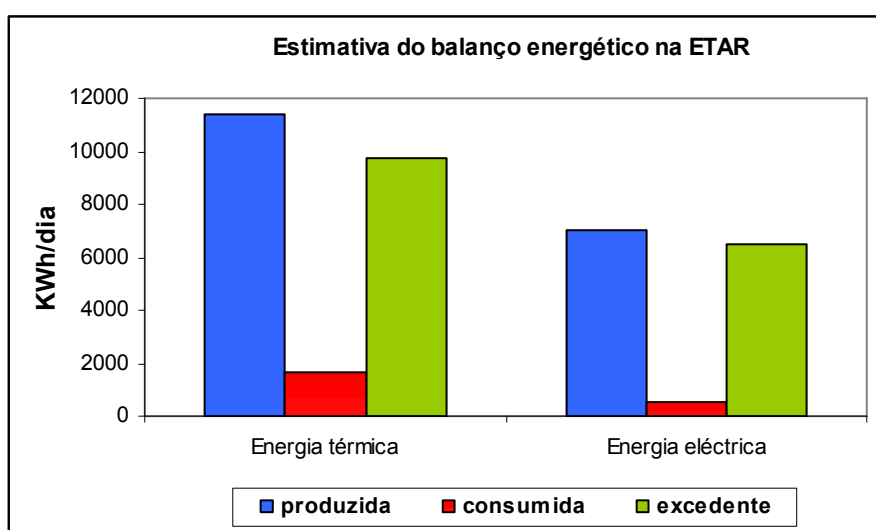


Figura 8.1- Estimativa da produção e consumos de energia térmica e eléctrica nos digestores da ETAR de Setúbal com a implementação da co-digestão.

A energia produzida que não é utilizada no processo anaeróbio pode ser utilizada para satisfazer os requisitos energéticos globais da ETAR.

O consumo de energia eléctrica da ETAR de Setúbal no mês de Março de 2009 foi de $232,7 \text{ GWh/mês}$, com um custo associado de $20.590,2 \text{ €/mês}$. A estimativa da energia eléctrica produzida com a implementação da co-digestão é de $210,3 \text{ GWh/mês}$, o que significa que a ETAR quase que se tornaria auto-sustentável em termos de consumo de energia eléctrica, permitindo uma poupança de 18.608 €/mês . Para além da valorização da energia eléctrica, a ETAR geraria um excedente de energia térmica de $291,3 \text{ GWh/mês}$.

9. Conclusões

Através dos resultados obtidos neste trabalho pode-se concluir que será possível a implementação, na ETAR de Setúbal, de um processo de co-digestão anaeróbia de lamas mistas com efluente da empresa MAURI Fermentos, numa proporção de 50% LM + 50% M (v/v). Para uma concentração de efluente da MAURI superior a 50% (v/v) verificou-se a ocorrência de inibição do processo de digestão, o qual se encontra associado provavelmente ao efeito tóxico, sobre as populações bacterianas, dos sulfatos presentes neste efluente, numa concentração elevada.

A implementação de um sistema de tratamento de co-digestão anaeróbia com estes dois substratos irá requerer uma adaptação gradual das populações bacterianas às concentrações progressivamente crescentes de sulfatos, até às condições óptimas de funcionamento ($2,16 \text{ (kgCQO)/(m}^3 \cdot \text{dia))}$), nas quais se poderá observar a maior produção de biogás. Nestas condições de funcionamento, será de esperar os seguintes resultados:

- a) Uma taxa diária de produção de biogás de cerca de $1,06 \text{ (m}^3 \text{/(m}^3 \cdot \text{dia))}$, a qual se estima que seja cerca de 3,5 vezes superior à situação do tratamento isolado das LM durante o período de arranque do digestor (primeiros 10 dias de operação);
- b) Uma composição de metano no biogás de 55 % a 65% (em volume);
- c) Uma eficiência de remoção de CQO compreendida entre 40 e 55%;

As principais preocupações a ter durante o processo de co-digestão anaeróbia destes dois tipos de efluentes prendem-se com os seguintes factores:

- a) A concentração de sulfatos, que não deverá exceder $2,35 \text{ g/l}$ no afluente;
- b) A eficiência de remoção do acetato, que mesmo durante a aplicação do lote 3 registou algum incremento no efluente (até cerca de $1,8 \text{ g/l}$);
- c) A concentração de fósforo, que sofreu uma redução acentuada, devido provavelmente à complexação com iões de cálcio que se encontram presentes em concentrações elevadas no efluente da MAURI, podendo verificar-se défice deste nutriente para a manutenção da actividade das bactérias;
- d) A concentração de trimetilglicina no efluente da MAURI, devido à susceptibilidade de gerar problemas de inibição. A degradação do composto trimetilglicina pelas bactérias pode gerar

um aumento da concentração de amónia e de acetato no digestor, agravando possíveis problemas de inibição resultantes da acumulação destes compostos no digestor.

Caso o processo seja cuidadosamente monitorizado, evitando a ocorrência de inibição significativa, estima-se que a implementação da co-digestão das lamas mistas com o efluente da MAURI na ETAR de Setúbal possa gerar 210 GWh/mês de energia eléctrica e 341 GWh/mês de energia térmica, sendo 7% da energia eléctrica e 14,6% da energia térmica utilizados para o funcionamento dos três digestores anaeróbios na ETAR. Esta produção de energia eléctrica possibilita uma poupança de 18.608 €/mês, tornando a ETAR praticamente auto-sustentável.

10. Proposta de trabalho futuro

No seguimento do presente trabalho, seria interessante estudar a viabilidade do aumento da proporção de efluente da empresa MAURI Fermentos, relativamente ao de lamas mistas (v/v) na alimentação do digestor, de modo a maximizar o potencial de produção de biogás. Para atingir este objectivo seria necessário a implementação de uma técnica que possibilitasse a remoção dos sulfatos presentes no efluente industrial, de modo a evitar os seus efeitos tóxicos nas bactérias, nomeadamente nas BMA, devido à elevada susceptibilidade de acumulação de acetato durante o tratamento anaeróbio deste tipo de efluentes. Para este efeito poderia ser efectuada a recirculação do efluente do digestor posteriormente a um procedimento com o objectivo de reduzir a concentração de sulfuretos no digestor, como técnicas de *stripping*, precipitação, oxidação parcial em compostos de enxofre elementar (S^0), ou a sua oxidação química (Lens et al., 2002).

A realização de um estudo futuro com este objectivo terá que ter em conta possíveis problemas associados à elevada eficiência de remoção do fósforo durante o processo anaeróbio, que deverá apresentar-se com um risco particularmente elevado à medida que se aumenta a percentagem do efluente da empresa MAURI Fermentos na alimentação do digestor. Poderia ter que ser também equacionada a reposição deste nutriente no digestor, de modo a possibilitar a manutenção de uma actividade satisfatória das bactérias para o tratamento anaeróbio, e estudada a viabilidade técnico-económica desta medida como solução para este problema.

11. Referências bibliográficas

Aguilar, A., Casas C. e Lema J. M. (1995) Degradation of volatile fatty acids by differently enriched methanogenic cultures: kinetics and inhibition. *Water Research*, **29**, (2), pp. 505-509.

Altaş, L. (2009) Inhibitory effect of heavy metals on methane-producing anaerobic granular sludge. *Journal of Hazardous Materials*, **162**, pp. 1551–1556.

Alves, M. M., Vieira, J. A. M., Pereira, R. M. A., Pereira, M. A. e Mota, M. (2001) Effects of lipids and oleic acid on biomass development in anaerobic fixed-bed reactors. Part II: Oleic acid toxicity and biodegradability. *Water Research*, **35**, (1), pp. 264-270.

Anderson; Donelly; McKeown (1982) Identification and control of inhibition in the anaerobic treatment of industrial wastewaters, *Process Biochemistry*, **17**, pp. 28-32

Angelidaki, I. e Ahring, B. K. (1995) Isomerization of n- and i-butyrate in anaerobic, methanogenic systems. *Antonie van Leeuwenhoek*, **68**, pp. 285-291.

Angelidaki, I. e Sanders, W. (2004) Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, **3**, pp. 117–129.

Appels, L., Baeyens, J., Degrève, J. e Dewil, R. (2008) Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*, **34**, pp. 755–781.

Archer, D. B. (1983) The microbiological basis of process control in methanogenic fermentation of soluble wastes, *Enzyme Microbial Technology*, **5**, (3), pp. 162-170.

Bashir, B. H. e Matin, A. (2004a) Effect of calcium and potassium on sodium inhibition to methanogens in anaerobic treatment processes, *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, **3**, (6), pp. 769-776.

Bashir, B. H. e Matin, A. (2004b) Combined effect of potassium and magnesium on sodium toxicity in anaerobic treatment processes. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, **4**, (1), pp. 827-834.

Bashir, B. H. e Matin, A. (2004c) Combined effect of calcium and sodium on potassium toxicity in anaerobic treatment processes. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, **3**, (2), pp. 670-676.

Batstone, D. J., Keller, J., Newell, R. B. e Newland, M. (2000) Modelling anaerobic degradation of complex wastewater. I: Model development. *Bioresource Technology*, **75**, pp. 67-74.

Batstone, D. J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhny, S. V., Pavlostathis, S. G., Rozzi, A., Sanders, W. T. M., Siegrist, H. and Vavilin, V. A. (2002) Anaerobic digestion model No. 1 (ADM1). *IWA Publishing*, Londres, Reino Unido.

Batstone, D. J., Pind, P. F. e Angelidaki, I. (2003) Kinetics of thermophilic, anaerobic oxidation of straight and branched chain butyrate and valerate. *Biotechnology and Bioengineering*, **84**, (2), pp. 195-204.

Batstone, D. J., Picioreanu, C. e van Loosdrecht M. C. M. (2006) Multidimensional modelling to investigate interspecies hydrogen transfer in anaerobic biofilms. *Water Research*, **40**, pp. 3099–3108.

Bhattacharya, S. K., Madura R. L., Uberoi, V. e Haghighi-Podeh, M. R. (1995) Toxic effects of cadmium on methanogenic systems, *Water Research*, **29**, (10), pp. 2339-2345.

Bhattacharya, S. K., Uberoi V. e Dronamraju, M. M. (1996) Interaction between acetate fed sulfate reducers and methanogens, *Water Research*, **30**, (10), pp. 2239-2246.

Björnsson, L., Murto, M. e Mattiasson, B. (2000) Evaluation of parameters for monitoring an anaerobic co-digestion process. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **54**, pp. 844-849.

Blonskaja, V., Kamenev I. e Zub, S. (2006) Possibilities of using ozone for the treatment of wastewater from the yeast industry. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences. Chemistry*, **55**, (1), pp. 29–39.

Borja, R., Sanchez, E. e Weiland, P. (1996) Influence of ammonia concentration on thermophilic anaerobic digestion of cattle manure in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Process Biochemistry*, **31**, (5), pp. 477-483.

Boušková A., Dohányos, M., Schmidt, J. E. e Angelidaki, I. (2005) Strategies for changing temperature from mesophilic to thermophilic conditions in anaerobic CSTR reactors treating sewage sludge. *Water Research*, **39**, pp. 1481–1488.

Cervantes, F. J., Pavlostathis S. G. e Van Haandel A. C. (2006) Advanced biological treatment processes for industrial wastewaters, IWA Publishing, Londres, Reino Unido, pp 231.

Chen Y., Cheng J. J., Creamer K. S. (2008) Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Bioresource Technology*, **99**, pp. 4044–4064.

Chou, H., Huang, J., Chen, W. e Ohara, R. (2008) Competitive reaction kinetics of sulfate-reducing bacteria and methanogenic bacteria in anaerobic filters. *Bioresource Technology*, **99**, pp. 8061–8067.

Claassen, P. A. M., Van Lier, J. B., Lopez Contreras, A.M., Van Niel, E.W.J., Sijtsma, L., Stams, A. J. M., De Vries, S. S., Weusthuis, R. A. (1999) Utilisation of biomass for the supply of energy carriers. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **52**, (6), pp. 741–755.

Colleran, E., Finnegan, S., Lens, P. (1995) Anaerobic treatment of sulphate-containing waste streams. *Antonie Van Leeuwenhoek*, **67**, pp. 29–46.

Colleran, E., Pender, S., Philpott, U., O’Flaherty, V. e Leahy, B. (1998) Full scale and laboratory-scale anaerobic treatment of citric acid production wastewater. *Biodegradation*, **9**, pp. 233-245

Colleran e Pender (2002) Mesophilic and termophilic anaerobic digestion of sulphate-containing wastewaters. *Water Science and Technology*, **45**, (10), pp. 231-235.

De Bok, F. A. M., Plugge, C. M. e Stams, A. J. M. (2004) Interspecies electron transfer in methanogenic propionate degrading consortia. *Water Research*, **38**, pp. 1368-1375.

Demirel, B. e Scherer, P. (2008) The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review. *Reviews in Environmental Science Biotechnology*, **7**, (2), pp. 1569-1705.

Di Berardino, S. (2001) A Digestão Anaeróbia Como e Porquê. Apresentado no seminário da IFE, Tratamento de Águas residuais, em 17 de Outubro de 2001.

Di Berardino, S. (2006a) O papel da digestão anaeróbia e da produção de Biogás no tratamento e valorização dos resíduos. CIES 2006 – XIII Congresso Ibérico e VIII Congresso Ibero-Americano de Energia Solar, 9-10 Novembro 2006, Lisboa.

Di Berardino, S. (2006b) *Desenvolvimento de um processo tecnológico inovador para o tratamento dos efluentes do processamento de sementes de alfarroba*, Tese de dissertação de Doutoramento, FCT-UNL, Lisboa.

Dolfing, J. (1988) Acetogenesis. pp. 417-442, In: Zehnder, A. J. B. (ed.) *Biology of Anaerobic Microorganisms*. John Wiley & Sons, Nova Iorque.

Duran, M. e Speece, R. E. (1997) Temperature staged anaerobic processes. *Environmental Technology*, **18**, (7), pp. 747–754.

El-Mashad, H. M., Zeeman, G., van Loon, W. K. P., Bot, G. P. A. e Lettinga, G. (2004) Effect of temperature and temperature fluctuation on thermophilic anaerobic digestion of cattle manure. *Bioresource Technology*, **95**, (2), pp. 191–201.

Fang, H. H. P., Hui, H. H. (1994) Effect of heavy metals on the methanogenic activity of starch-degrading granules, *Biotechnology Letters*, **16**, (10), pp. 1091–1096.

Feijoo, G., Soto, M., Méndez, R. e Lema, J. R. (1995) Sodium inhibition in the anaerobic digestion process: Antagonism and adaptation phenomena. *Enzyme and Microbial Technology*, **17**, (2), pp. 180-188.

Fey, A. e Conrad, R. (2000) Effect of temperature on carbon and electron flow and on the archaeal community in methanogenic rice field soil. *Applied and Environmental Microbiology*, **66**, (11), pp. 4790-4797.

Fukuzaki, S., Nishio, N., Shobayashi, M. e Nagai, S. (1990) Inhibition of the Fermentation of Propionate to methane by Hydrogen, Acetate, and Propionate. *Applied and Environmental Microbiology*, **56**, (3), pp. 719-723.

García-Saucedo, C., Fernández, F. J., Buitrón, G., Cuervo-López, F. M. e Gómez, J. (2008) Effect of loading rate on TOC consumption efficiency in a sulfate reducing process: sulfide effect in batch culture. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **83**, (12), pp. 1648–1657.

Griffin, M. E., McMahon, K. D., Mackie, R. I. e Raskin, L. (1998) Methanogenic population dynamics during start-up of anaerobic digesters treating municipal solid waste and biosolids. *Biotechnology and Bioengineering*, **57**, (3), pp. 342-355.

Guia técnico do biogás (2000) CCE - Centro para a conservação de energia, Algés.

Guwy, A. J., Hawkes, F. R., Hawkes, D. L. e Rozzi, A. G. (1997) Hydrogen production in a high rate fluidised bed anaerobic digester. *Water Research*, **31**, (6), pp. 1291-1298.

Van Haandel, A. C. e Lettinga, G. (1994) Anaerobic sewage treatment – A practical guide for regions with a hot climate. John Wiley and Sons Limitada, Reino Unido.

Hammes F., Kalago, Y., Verstraete, W. Anaerobic Digestion Technologies for closing the domestic water, carbon and nutrient cycles. In: II Internacional Symposium on anaerobic digestion of solid waste, Barcelona 15-17 June-99, Vol.I Oral presentations, edited by MATA-Alvarez J., Tilche, A., Cechi, F., Barcelona.

Hansen, T. A. (1993) Carbon metabolism of sulphate-reducing bacteria. J.M. Odom and J.R.Rivers-Singleton (eds). *In The Sulphate-Reducing Bacteria: Contemporary Perspectives*. Springer –Verlag, Nova Iorque, pp. 21 – 40.

Hansen, K. A., Angelidaki, I. e Ahring, B. K. (1998) Anaerobic digestion of swine manure: Inhibition by ammonia, *Water Research*, **32**, (1), pp. 5-12.

Hansen, K. H., Angelidaki, I. e Ahring, B. K. (1999) Improving thermophilic anaerobic digestion of swine manure. *Water Research*, **33**, (8), pp. 1805-1810.

Harada, H., Uemura, S., Monomoi, K., (1994) Interactions between sulphate-reducing bacteria and methane-producing bacteria in UASB reactors fed with low strength wastes containing different levels of sulphate. *Water Research*, **28**, (2), pp. 355–367.

Horiuchi, J., Shimizu, T., Kanno, T. e Kobayashi, M. (1999) Dynamic behavior in response to pH shift during anaerobic acidogenesis with a chemostat culture. *Biotechnology Techniques*, **13**, (3), pp. 155-157.

Horiuchi, J., Shimizu, T., Tada, K., Kanno, T. e Kobayashi, M. (2002) Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control. *Bioresource Technology*, **82**, (3), pp. 209-213.

Hui, Y. H., Corke, H., De Leyn, I., Nip, W. K. e Cross, N.A. (2006) Bakery products – Science and Technollogy, Wiley Blackwell Publishing, pp. 173-177.

Hulshoff Pol, L. W., Lens, P. N. L., Stams, A. J. M. e Lettinga, G. (1998) Anaerobic treatment of sulphate-rich wastewaters. *Biodegradation*, **9**, (3-4), pp. 213–224.

Hwang, M. H., Jang, N. J., Hyum, S. H. e Kim, I. S. (2004) Anaerobic bio-hydrogen production from ethanol fermentation: the role of pH. *Journal of Biotechnology*, **111**, (3), pp. 297-309.

Hwu, C. S., Tseng, S. K., Yuan, C. Y., Kulik, Z. e Lettinga, G., (1998) Biosorption of long-chain fatty acids in UASB treatment process. *Water Research*, **32**, (5), pp. 1571–1579.

Igoni, A. H., Ayotamuno, M. J., Eze, C. L., Ogaji, S. O. T. e Probert, S. D. (2008) Designs of anaerobic digesters for producing biogas from municipal solid-waste. *Applied Energy*, **85**, (6), pp. 430–438.

Isa, Z., Grusenmeyer, S. e Verstraete, W. (1986) Sulfate reduction relative to methane production in high-rate anaerobic digestion: technical aspects. *Applied environmental microbiology*, **51**, (3), pp. 572-579.

Jin, P., Bhattacharya, S. K., Williams, C. J. e Zhang, H. (1998) Effects of sulfide addition on copper inhibition in methanogenic systems. *Water Research*, **32**, (4), pp. 977-988.

Jördening, H. J. e Winter, J. (2005) Environmental biotechnology, Wiley-VCH, Alemanha, pp 22-23.

Kayhanian, M. (1999) Ammonia Inhibition in high-solids biogasification: an overview and practical solutions. *Environmental Technology*, **20**, (4), pp. 355-365.

Kelleher, B. P., Leahy, J. J., Henihan, A. M., O'Dwyer, T. F., Sutton, D. e Leahy, M. J. (2000) Advances in poultry litter disposal technology – a review. *Bioresource Technology*, **83**, (1), pp. 27–36.

Koppe, P., Stozek, A., Neitzel, V. (1999) Municipal Wastewater and Sewage Sludge, in Rehm H.J. e Reed G. eds (1999) Biotechnology, Vol. 11a Environmental Processes I – Wastewater Treatment, Wiley-VCH, pp. 162-168.

Kotsyurbenko, O. R. (2005) Trophic interactions in the methanogenic microbial community of low-temperature terrestrial ecosystems. *FEMS Microbiology Ecology*, **53**, (1), pp. 3-13.

Krapivina, M., Kurissoo, T., Blonkaja, V., Zub, S. e Vilu, R. (2007) Treatment of sulphate containing yeast wastewater in an anaerobic sequence batch reactor. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences. Chemistry*, **56**, (1), pp. 38–52.

Laanbroek, J. H., Sitjtsma, G. H. e Veldkamp, H. (1984) Competition for sulphate and ethanol among *Desulfobacter*, *Desulfobulbus* and *Desulfovibrio* species isolated from intertidal sediments. *American Society for Microbiology*, **47**, (2), pp. 329-334.

Lens, P. N. L., O'Flaherty, V., Dijkema, C., Colleran, E. e Stams, A. J. M. (1996) Propionate degradation by Mesophilic Anaerobic Sludge: Degradation Pathways and Effects of Other Volatile Fatty Acids. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, **82**, (4), pp. 387-391.

Lens, P. N. L., Visser A., Janssen, A. J. H., Hulshoff Pol, L. W. e Lettinga G., (1998) Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters; *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, **28**, (1), pp. 41-88.

Lens, P. N. L., Van Den Bosch, M. C., Hulshoff Pol, L. W. e Lettinga, G. (1998b) Effect of staging on volatile fatty acid degradation in a sulfidogenic granular sludge reactor. *Water Resource*, **32**, (4), pp. 1178-1192.

Lens, P., Vallero, M., Esposito, G. e Zandvoort, M. (2002) Perspectives of sulfate reducing bioreactors in environmental biotechnology. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, **1**, (4), pp. 311-325.

Lettinga (1995) Anaerobic digestion and wastewater treatment systems, *Antonie Van Leeuwenhoek*, **67**, (1), pp. 3-28.

Li, C. e Fang, H. H. P. (2007) Inhibition of heavy metals on fermentative hydrogen production by granular sludge, *Chemosphere*, **67**, (4), pp. 668–673.

Lin, C. Y. (1993) Effect of heavy-metals on volatile fatty-acid degradation in anaerobic digestion, *Water Research*, **26**, pp. 177–183.

Lo, K. L., Hen, A., Liao, P.H. (1990) Anaerobic treatment of Baker's yeast wastewater: I. Start-up and sodium Molybdate addition. *Biomass*, **21**, pp. 207-218.

Lopes, S. I. C., Wang, X., Capela, M. I. e Lens, P. N. L. (2007) Effect of COD/SO₄²⁻ ratio and sulfide on thermophilic (55°C) sulfate reduction during the acidification of sucrose at pH 6. *Water Research*, **41**, pp. 2379 – 2392.

Lopes, S. I. C., Capela, M. I., van Hullebusch, E. D., van der Veen, A. e Lens, P. N. L. (2008) Influence of low pH (6,5 and 4) on nutrient dynamics and characteristics of acidifying sulfate reducing granular sludge. *Process Biochemistry*, **43**, pp. 1227-1238.

Lovley, D. R. (1985) Minimum threshold for hydrogen metabolism in methanogenic bacteria. *Applied Environmental Microbiology*, **49**, pp. 1530-1531.

Neves, L. (2002) *Caracterização de biomassa anaeróbia granular: Análise qualitativa e quantitativa de imagem, hibridização com sondas genéticas (FISH) e técnicas histológicas*. Tese de Dissertação de Mestrado, Universidade do Minho.

Maillacheruvu, K. Y. e Parkin, G. F. (1996) Kinetics of growth, substrate utilization and sulfide toxicity for propionate, acetate, and hydrogen utilizers in anaerobic systems. *Water Environment Research*, **68**, (7), pp. 1099–1106.

Mara, D. e Horan, N. (2003) *The handbook of water and wastewater microbiology*, Academic Press, University of Leeds, Reino Unido.

Martinelle, M., Hult, K., (1994) Kinetics of triglyceride lipases. *in* Woolley, S. (Ed.), *Lipases*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 363.

Mata-Alvarez, J., Mace, S. e Llabrés, P. (2000) Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresource Technology*, **74**, (1), pp. 3–16.

McCarty P. L., (1964) Anaerobic waste treatment fundamentals – part one: chemistry and microbiology; part two: environmental requirements and control, part three: toxic materials and their control, part four: process design, Public Works.

McCarty, P. L. e Smith, D. P. (1986) Anaerobic wastewater treatment. *Environmental Science & Technology*, **20**, (12), pp. 1200-1206.

McCartney, D.M. e Oleszkiewicz, J.A. (1993) Competition between methanogens and sulphate reducers: effect of COD: sulphate ratio and acclimation. *Water Environment Research*, **65**, pp. 655 – 664.

McHugh, S., O'Reilly, C., Mahony, T., Colleran, E. e O'Flaherty, V. (2003) Anaerobic granular sludge bioreactor technology. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, **2**, (2-4), pp. 225–245.

McInerney, M. J., 1988. Anaerobic hydrolysis and fermentation of fats. *in* Zehnder, (Ed.), *Biology of Anaerobic Microorganisms*. Wiley, New York, pp. 872.

McInerney, M. J. e Bryant, M. P. (1981) Anaerobic Degradation of Lactate by Syntrophic Associations of *Methanosarcina barkeri* and *Desulfovibrio* Species and Effect of H₂ on Acetate Degradation. *Applied Environmental Microbiology*, **41**, (2), pp. 346-354.

McInerney M. J. (1999) Anaerobic metabolism and its regulation. *in* Rehm H.J. e Reed G. eds (1999) *Biotechnology*, Vol. 11a *Environmental Processes I – Wastewater Treatment*, Wiley-VCH, pp.456-491.

McMahon, K. D., Stroot, P. G., Mackie, R. I. e Raskin, L. (2001) Anaerobic codigestion of municipal solid waste and biosolids under various mixing conditions- II: Microbial population dynamics. *Water Research*, **35**, (7), pp. 1817-1827.

Mechichi, T. e Sayadi, S. (2005) Evaluating process imbalance of anaerobic digestion of olive mill wastewaters. *Process Biochemistry*, **40**, (1), pp. 139-145.

Metcalf & Eddy (2003) *Wastewater Engineering – Treatment and reuse*. McGraw Hill, 4ª edição, edição internacional.

Miron, Y., Zeeman, G., Van Lier, J. B. e Lettinga, G. (2000) The role of sludge retention time in the hydrolysis and acidification of lipids, carbohydrates and proteins during digestion of primary sludge in CSTR systems. *Water Research*, **34**, (5), pp. 1705-1713.

Moosbrugger, R. E., Wentzel, M. C., Ekama, G. A. e Marais, G. v. R. (1993) A 5 pH point titration method for determining the carbonate and SCFA weak acid/bases in anaerobic systems. *Water Science and Technology*, **28**, (2), pp. 237-245.

Nielsen, H. B. (2006) *Control parameters for understanding and preventing process imbalances in biogas plants: Emphasis on VFA dynamics*. Tese de Dissertação de Doutorado, Technical University of Denmark.

Nielsen, H. B., Uellendahl, H. e Ahring, B. K. (2007) Regulation and optimization of the biogas process: Propionate as a key parameter. *Biomass and Bioenergy*, **31**, (11-12), pp. 820–830.

Nielsen, H. B. e Angelidaki, I. (2008) Strategies for optimizing recovery of the biogas process following ammonia inhibition. *Bioresource Technology*, **99**, (17), pp. 7995–8001.

O’Flaherty, V., Mahony, T., O’Kennedy, R. e Colleran, E. (1998a) Effect of pH on growth kinetics and sulphide toxicity thresholds of a range of methanogenic, syntrophic and sulphate-reducing bacteria. *Process Biochemistry*, **33**, (5), pp. 555-569.

O'Flaherty, V., Lens, P., Leahy, B. e Colleran, E. (1998b) Long-term competition between sulphate-reducing and methane-producing bacteria during full scale anaerobic treatment of citric acid production wastewater. *Water research*, **32**, (3), pp. 815-825.

O'Flaherty, V., Colohan, S., Mulkerrins, D. e Colleran, E. (1999) Effect of sulphate addition on volatile fatty acid and ethanol degradation in an anaerobic hybrid reactor. II: microbial interactions and toxic effects. *Bioresource Technology*, **68**, (2), pp. 109-120.

Okabe, S., Nielsen, P. H., Jones, W. L. E Characklis, W. G. (1995) Sulfide product inhibition of *desulfovibrio desulfuricans* in batch and continuous cultures, *Water Research*, **29**, (2), pp. 571-578.

Oleszkiewicz, J. A., Marstaller, T. e McCartney, D. M. (1989) Effects of pH on sulfide toxicity to anaerobic processes. *Environmental Technology*, **10**, (9), pp. 815-822.

Omil, F., Méndez, R. e Lema J. M. (1995) Anaerobic treatment of saline wastewaters under high sulphide and ammonia content. *Bioresource Technology*, **54**, (3), pp. 269-278.

Omil, F., Lens, P., Hulshoff Pol, L. e Lettinga, G. (1996) Effect of Upward Velocity and Sulphide Concentration on Volatile Fatty Acid Degradation in a Sulphidogenic Granular Sludge Reactor. *Process Biochemistry*, **31**, (7), pp. 699-710.

Oude Elferink, S., Visser, A., Hulshoff Pol, L. W. e Stams, A. J. M. (1994) Sulfate reduction in methanogenic bioreactors. *FEMS Microbiology Reviews*, **15**, (2-3), pp. 119-136.

Parawira, W., Murto, M., Read, J. S. e Mattiasson, B. (2005) Profile of hydrolases and biogas production during two-stage mesophilic anaerobic digestion of solid potato waste. *Process Biochemistry*, **40**, (9), pp. 2945-2952.

Pender, S., Toomey, M., Carton, M., Eardly, D., Patching, J. W., Colleran, E. e O'Flaherty, V. (2004) Long-term effects of operating temperature and sulphate addition on the methanogenic community structure of anaerobic hybrid reactors. *Water Research*, **38**, (3), pp. 619-630.

Pind, P. F., Angelidaki, I. e Ahring, B. K. (2003a) Dynamics of the anaerobic process: Effects of volatile fatty acids. *Biotechnology and Bioengineering*, **82**, (7), pp. 791-801.

Pind, P. F., Angelidaki, I., Ahring, B. K., Stamatelatou, K. e Lyberatos, G. (2003b) Monitoring and control of anaerobic reactors. Pp. 135-182, *in* Ahring, B. K. (ed.) Biomethanation II. Springer, Berlim.

Postgate, J. R. (1984) The sulfate-reducing bacteria. 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press.

Reis, M. A. M., Gonçalves L. M. D. e Carrondo M. J. T. (1988) Sulfate removal in acidogenic phase anaerobic-digestion. *Environmental Technology*, **9**, (8), pp. 775-784.

Ren, N., Wang, B. e Huang, J. H. (1997) Ethanol-type fermentation from carbohydrate in high rate acidogenic reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, **54**, (5), pp. 428-433.

Rodriguez, J., Kleerebezem, R., Lema, J. M. e Van Loosdrecht, M. C. M. (2006) Modeling product formation in anaerobic mixed culture fermentations. *Biotechnology and Bioengineering*, **93**, (3), pp. 592-606.

Sabumon, P. C. (2008) Development of enhanced sulphidogenesis process for the treatment of wastewater having low COD/SO₄²⁻ ratio. *Journal of Hazardous Materials*, **159**, (2-3), pp. 616-625.

Sahinkaya, E., Özkaya, B., Kaksonen, A. H. e Puhakka, J. A. (2006) Sulfidogenic Fluidized-Bed Treatment of Metal-Containing Wastewater at Low and High Temperatures. *Biotechnology and Bioengineering*, **96**, (6), pp. 1064-1072.

Sarada, R., Joseph, R. (1993) Profile of hydrolases acting on major macromolecules of tomato processing waste during anaerobic digestion. *Enzyme Microbiology Technology*, **15**, pp. 339-342.

Schink, B. (1997) Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **61**, (2), pp. 262-280.

Schnurer, A., Zellner, G. e Svensson, B. H. (1999) Mesophilic syntrophic acetate oxidation during methane formation in biogas reactors. *FEMS Microbial Ecology*, **29**, (3), pp. 249-261.

Schulz, S., Matsuyama, H., e Conrad, R. (1997) Temperature dependence of methane production from different precursors in a profundal sediment (Lake Constance). *FEMS Microbiology Ecology*, **22**, (3), pp. 207-213.

Siegert, I. e Banks, C. (2005) The effect of volatile fatty acid additions on the anaerobic digestion of cellulose and glucose in batch reactors. *Process Biochemistry*, **40**, (11), pp. 3412–3418.

Song, Z., Williams, C. J. e Edyvean R. G. J. (2001) Coagulation and anaerobic digestion of tannery wastewater. *Institution of Chemical Engineers*, **79**, (1), pp. 23-28.

Speece, R. E. (1983) Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Environmental Science & Technology*, **17**, (9), pp. 416A-427A.

Stroot, P. G., McMahon, K. D., Mackie, R. I. e Raskin, L. (2001) Anaerobic codigestion of municipal solid waste and biosolids under various mixing conditions - I. digester performance. *Water Research*, **35**, (7), pp. 1804-1816.

Sung, S. e Liu, T. (2003) Ammonia inhibition on thermophilic anaerobic digestion. *Chemosphere*, **53**, (1), pp. 43–52.

Tafdrup, S. (1995) Viable energy production and waste recycling from anaerobic digestion of manure and other biomass. *Biomass and Bioenergy*, **9**, (1-5), pp. 303-314.

Thauer, R. K., Jungermann, K. e Decker, K. (1977) Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriological Reviews*, **41**, (1), pp. 100-180.

Trnovec, W. e Britz, T. J. (1998) Influence of organic loading rate and hydraulic retention time on the efficiency of a UASB bioreactor treating a canning factory effluent. *Water S.A.*, **24**, (2), pp. 1147-1152.

Van Langerak, E.P.A., Gonzalez-Gil, G., Van Aelst, A., Van Lier, J.B., Hamelers, H.V.M. e Lettinga, G. (1998) Effects of high calcium concentration on the development of methanogenic sludge in upflow anaerobic sludge bed (UASB) reactors. *Water Research*, **32**, (4), pp. 1255-1263.

Van Lier, J. B. (1995) *Thermophilic anaerobic wastewater treatment; Temperature aspects and process stability*. Tese de dissertação de doutoramento, Wageningen Agricultural University, Wageningen, Holanda.

Vavilin, V. A., Fernandez, B., Palatsi, J. e Flotats, X. (2008) Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: An overview. *Waste Management*, **28**, (6), pp. 939-951.

Vavilin, V. A. e Angelidaki, I. (2005) Anaerobic degradation of solid material: Importance of initiation centers for methanogenesis, mixing intensity, and 2D distributed model. *Biotechnology and Bioengineering*, **89**, (1), pp. 113-122.

Vavilin, V. A., Rytov, S. V. e Lokshina, L. Y. (1996) A description of hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic matter. *Bioresource Technology*, **56**, (2-3), pp. 229-237.

Vavilin, V. A., Rytov, S. V. e Lokshina, L. Y. (1995) Modelling hydrogen partial pressure change as a result of competition between the butyric and propionic groups of acidogenic bacteria, *Bioresource Technology*, **54**, (2), pp. 171-177.

Vavilin, V. A., Lokshina, L. Y., Rytov, S. V., Kotsyurbenko, O. R., Nozhevnikova, A. N. e Parshina, S. N. (1997) Modelling methanogenesis during anaerobic conversion of complex organic matter at low temperatures. *Water Science and Technology*, **36**, (6-7), pp. 531-538.

Visser, A. e Hulshoff Pol, L. W. (1996) Anaerobic treatment of sulfate-rich wastewaters, Department of Environmental Technology, Wageningen Agricultural University, Holanda.

Visser, A., Nozhevnikova, A. N. e Lettinga, G. (1993) Sulphide inhibition of methanogenic activity at various pH levels at 55°C. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, **57**, (1), pp. 9-13.

Ward, A. J., Hobbs, P. J., Hollimen, P. J., Jones, D. L. (2008) Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource Technology*, **99**, (17), pp. 7928–7940.

Weiland, P. (2000) Anaerobic waste digestion in Germany – Status and recent developments. *Biodegradation*, **11**, (6), pp. 415-421.

Widdel, F. (1988). Microbiology and Ecology of Sulfate- and Sulfur-Reducing Bacteria. in A. J. B. Zehnder (ed.), *Biology of anaerobic organisms*. Wiley-Interscience, New York, pp. 469–586.

Yoda, M., Kitagawa, M. e Miyaji, Y. (1987) Long term competition between sulfate reducing and methane producing bacteria for acetate in anaerobic biofilm. *Water Research*, **21**, 1547-1556.

Yu, H. Q., Fang H. H. P. e Tay J. H. (2001) Enhanced sludge granulation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors by aluminium chloride. *Chemosphere*, **44**, (1), pp. 31-36.

Zayed, G. e Winter, J. (2000) Inhibition of methane production from whey by heavy metals - protective effect of sulfide. *Applied Microbiology Biotechnology*, **53**, (6), pp. 726-731.

Zehnder, A. J. B. e Stumm, W. (1988) Geochemistry and biogeochemistry of anaerobic habitats. p.1-38, in Zehnder, A. J. B. (ed.) *Biology of Anaerobic Microorganisms*. John Wiley & Sons, Nova Iorque.

Zinder, S. H. and Korch, M. (1984) Non-aceticlastic methanogenesis from acetate: Acetate oxidation by a thermophilic syntrophic coculture. *Archives of Microbiology*, **138**, pp. 263-272.

Zub, S., Kurisso, T., Menert, A. e Blonskaja, A. (2008) Combined biological treatment of high-sulphate wastewater from yeast production. *Water and Environment Journal*, **22**, pp. 274–286.

Anexo- Curva de calibração utilizada para a análise de fósforo

